

Syntetiske studier mot potensielle caspase-3 inhibitorer

Masteroppgave i Farmasi

Eirik Johansson Solum



Farmasøytisk Institutt
UNIVERSITETET I OSLO

Mai 2010

Syntetiske studier mot potensielle caspase-3 inhibitorer

Masteroppgave i Farmasi

Eirik Johansson Solum

*Seksjon for Legemiddelkjemi, Avdeling for
Farmasøytisk kjemi ved Farmasøytisk Institutt, det
Matematisk-Naturvitenskaplige Fakultet*

UNIVERSITETET I OSLO

Mai 2010

© Eirik Johansson Solum

2010

Syntetiske studier mot potensielle caspase-3 inhibitorer

Eirik Johansson Solum

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Sammendrag

Hensikten med oppgaven var å lage molekyler som skulle testes for inhibitorisk aktivitet mot caspase-enzymmer, og spesielt caspase-3. Molekylene skulle syntetiseres ved hjelp av Huisgen sykloaddisjonskjemi. Det var på forhånd foreslått en syntesestrategi av utgangstoffene for sykloaddisjonsreaksjonene. Først ble det jobbet med den aromatiske delen av molekylet. Det ble syntetisert to alkyner, metyl 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoat og 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre. I tillegg ble det undersøkt at forbindelsen 2-hydroksy-5-(*N*-(prop-2-yn-1-yl)sulfamoyl)benzosyre er kommersielt tilgjengelig.

Syntesen av de ønskede azidene var litt mer utfordrende. Det ble syntetisert to azider. Cu(I)-katalysert sykloaddisjonsreaksjon, under Sharpless sine betingelser, ble prøvd, men ga ikke de ønskede triazolene. Det ble dermed syntetisert et nytt alkyn, som ble prøvd i den nevnte sykloaddisjonsreaksjonen. Det ønskede produktet ble heller ikke her dannet, og det ble antatt at problemene med den Cu(I)-katalyserte sykloaddisjonsreaksjonen er knyttet til azidene. Reaksjonen ble derfor gjort med et annet azid som viste seg å fungere bra.

Forord

Oppgaven er utført ved seksjon for legemiddelkjemi, avdeling for Farmasøytisk kjemi, Farmasøytisk Institutt ved Universitet i Oslo. Veileder for oppgaven er førsteamanuensis Trond Vidar Hansen, og jeg ønsker å takke ham for faglige råd, oppbacking og generell veiledning gjennom arbeidet med masteroppgaven.

Videre ønsker jeg å takke alle personene på avdelingen, og vil spesielt fremheve avdelingsingeniørene Iuliana Johanssen og Atle Haugen for opplæring i NMR-instrumenter, for å ha skaffet kjemikalier, lisenaser og for å ha i varetatt HMS-biten. I tillegg vil jeg takke dr. Hany F. Anwar for god hjelp på laben i starten av arbeidet mitt med oppgaven. Sist men ikke minst vil jeg takke samboer Berit Lylum, resten av familien min og venner for tålmodighet og alt det andre.

Liste over Forkortelser

HMS	helse, miljø og sikkerhet
API	active pharmaceutical ingredients
TLC	tynnsjiktskromatografi
<i>J</i>	koblingskonstant
δ-verdi	kjemiskskiftverdi
brine	mettet NaCl-løsning
DMF	dimetylformamid
TMS	trimetylsilyl
TBAF	<i>tetra</i> -butylamoniumfluorid (<i>n</i> -Bu ₃ NF)
DMAP	4-(dimetylamino)pyridin
HATU	2-(7-Aza-1 <i>H</i> -benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate)
THF	tetrahydrofuran
K_i	Hemmingskonstant ved 50% enzymhemming
DMP	dimetoksypropan
DMAP	4-dimetoksypyridin

Innholdsfortegnelse

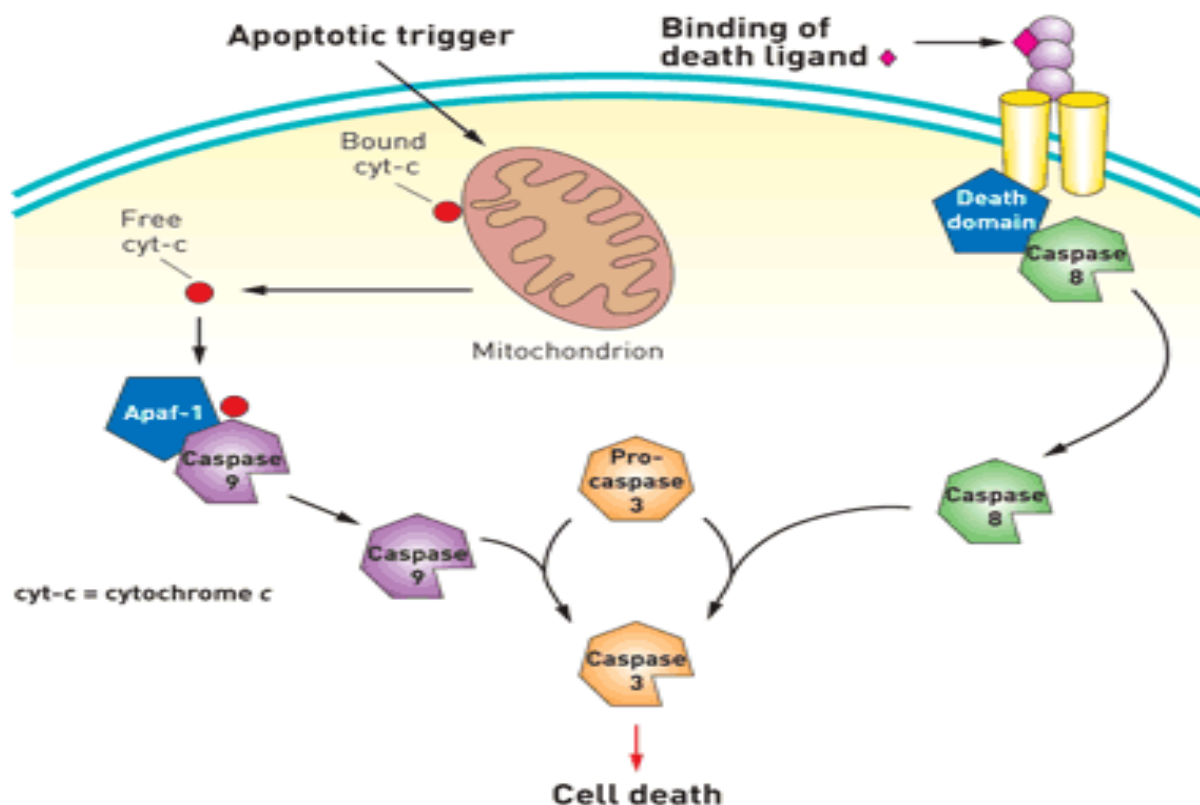
1	Innledning.....	1
1.1	Innledning– til caspaser.....	1
1.2	Caspase-3 hemming som biologisk target.....	2
1.3	Molekyler som har vist effekt overfor Caspaser	3
1.4	Mål for oppgaven	6
1.5	Retrosyntetisk analyse.....	6
1.6	Syntese av 1,2,3-Triazoler.....	6
1.6.1	<i>In situ</i> klikk-kjemi	8
1.7	Syntese av alkyner.....	8
1.7.1	Sonogashira-reaksjoner	9
1.8	Syntese av azider.....	10
1.9	Klikk kjemi – Syntese av de ferdige produktene	10
2	Resultat og diskusjon	12
2.1	Syntese av salicylsyrederivater	12
2.1.1	Syntese av 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre	12
2.1.2	Syntese av 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzosyre.....	17
2.1.3	Syntese av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4 <i>H</i> - benzo[d][1,3]dioksin-4-on 21	
2.1.4	2-Hydroksy-5-(<i>N</i> -(prop-2-yn-1-yl)sulfamoyl)benzosyre	24
2.2	Syntese av azider.....	25
2.3	Cu(I) katalysert Huisgen Sykloaddisjon	27
2.4	Videre arbeid	29
3	Konklusjon og videre studier	33
3.1	Salisylsyredelen.....	33
3.2	Azidene.....	33
3.3	Cu(I)-katalysert sykloaddisjonsreaksjon	33
3.4	Videre arbeid	33
4	Ekspperimentelt.....	34
4.1	Materialer	34
4.2	Apparater.....	34
4.2.1	Tynnsjikt-kromatografi (TLC).....	34

4.2.2	Kjernemagnetisk ressonanspektroskopi (NMR).....	34
4.2.3	Infrarødspektroskopi (IR)	35
4.3	Syntese av 3-allyl-2-hydroksybenzaldehyd	36
4.4	Syntese av metyl 2-hydroksy-5-Jodobenzoat.....	38
4.5	Syntese av metyl 2-hydroksy-5-((trimetylsilyl)etynyl)benzoat	40
4.6	Syntese av metyl 5-etynyl-2-hydroksybenzoat	42
4.7	Syntese av 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre.....	44
4.8	Syntese av metyl 2,5-dihydroksybenzoat.....	47
4.9	Syntese av metyl 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoat	49
4.10	Syntese av 6-hydroksy-2,2-dimetyl-4 <i>H</i> -benzo[d][1,3]dioksin-4-on	52
4.11	Syntese av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4 <i>H</i> -benzo[d][1,3]dioksin-4-on ...	54
4.12	Forsøk på syntese av 2-bromo- <i>N</i> -(cyanometyl)acetamid	56
4.13	Forsøk på syntese av 2-bromo- <i>N</i> -(cyanometyl)acetamid 2	57
4.14	Syntese av 2-bromo- <i>N</i> -(cyanometyl)acetamid	58
4.15	Syntese av 2-azido- <i>N</i> -(cyanometyl)acetamid	60
4.16	Syntese av 3-kloro- <i>N</i> -(cyanometyl)propanamid.....	62
4.17	Syntese av 3-azido- <i>N</i> -(cyanometyl)propanamid.....	64
4.18	Syntese av 5-((1-(2/3-((cyanometyl)amino)-2/3-oksoetyl/oksopropyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)metoksy)-2-hydroksybenzosyre.....	65
4.19	Syntese av <i>N</i> -(cyanometyl)-2-(4-(((2,2-dimetyl-4-oxo-4 <i>H</i> -benzo[d][1,3]dioxin-6-yl)oxy)metyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)acetamid.....	66
4.20	Syntese av etyl 4-azidobutanoat.....	67
4.21	Syntese av metyl 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoat	69
4.22	Syntese av 5-((1-(4-((cyanometyl)amino)-4- oksobutyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)metyl)-2-hydroksybenzosyre	71
	Litteraturliste	74

1 Innledning

1.1 Innledning– til caspaser

Caspasene er en fellesbetegnelse på enzymer, som blant annet er viktig i forbindelse med cellenes apoptose. Det finnes flere ulike caspaser som har ulike funksjoner. Caspasene som deltar i apoptosen kan deles i to, initiator- og effektor caspaser, utfra hvilken rolle de har i prosessen^[1]. Caspase-3 er en effektor caspase og har en nøkkelrolle i apoptosen fordi enzymet medierer signaler fra både mitokondrielveien (intrinsic) og dødsreseptorveien (extrinsic)^[2]. Forsøk på dyremodeller og enzymassay har vist at hemming av ulike caspaser har stort terapeutisk potensial innenfor inflammatoriske- og degenerative sykdommer, inkludert reumatoid artritt, leverskader, infarkt og ulike nevrodegenerative sykdommer^[3]. Det er samtidig mulig å se for seg alvorlige bivirkninger ved en uspesifikk og effektiv hemming av programmert celledød.



Figur 1.1: Skisse av apoptose^[4].

1.2 Caspase-3 hemming som biologisk target

Caspace-3 og spesielt caspase-3 er som sagt viktige i forbindelse med neurodegenerative sykdommer som Alzheimer og Parkinson. Patologien til denne typen sykdommer er ikke fullstendig klarlagt, men det er observert tap av nevronal aktivitet i ulike områder i hjernen. Årsaken til dette er kompleks, men en av faktorene som spiller inn er økt celledød *via* både nekrose og apoptose ^[5]. Hypotesen er at man ved å redusere apoptosen i de utsatte nervecellene, vil kunne redusere tapet av den nevronale aktiviteten.

Et viktig spørsmål som melder seg er om aktiviteten allerede har gått tapt før cellene blir apoptotiske. I så tilfelle vil det være meningsløst med denne type behandling, fordi resultatet vil da være en hel del levende nerveceller uten funksjon. En annen utfordring er å få hemmingen spesifikk nok. Det er mulig å se for seg store bivirkninger ved å slå ut kroppens evne til å kvitte seg med "unødvendige" celler. Men hvis man finner et molekyl som skulle vise seg å være effektiv og sikker er potensialet både økonomisk og terapeutisk enormt.

Dagens behandling av neurodegenerative sykdommer er langt fra optimal. Disse sykdommene er kronisk progredierende med individuelle forløp. Det er per i dag ikke mulig å bli frisk hvis man har fått en slik diagnose. Behandlingen går ut på å bremse sykdomsprogressjonen ^[6].

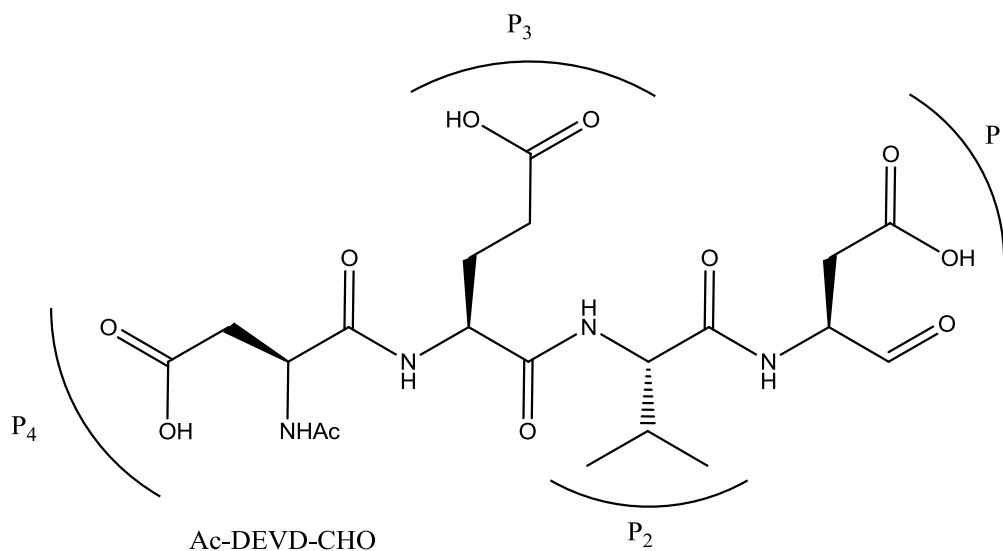
Parkinsons er en av flere sykdommer innen denne gruppen, Alzheimer og Huntington korea er andre eksempler. Den bakenforliggende patologien til parkinsonisme er defekt dopaminsignaler i substantia nigra, også andre neurotransmittere enn dopamin kan være involvert. Det observeres også tap av celler som har med dopaminsignaler i dette området ^[7]. Årsaken til dette er ikke fullstendig klarlagt, og det er flere ulike hypoteser som er utgangspunkt for forskning rundt om i verden. En forklaring baserer seg på teorien om at frie radikaler spiller en viktig rolle, mens andre forklaringer har tatt utgangspunkt i virusinfeksjoner som setter i gang autoimmune reaksjoner som angriper substantia nigra eller kjemiske giftstoffer som inntas. Denne teorien styrkes av at man vet at enkelte medisiner som brukes innen psykiatrien (psykofarmaka eller nevroleptika), og noen narkotiske stoffer kan forårsake samme symptomer som Parkinsons sykdom ^[7]. Uansett er det påvist en viss arvelig forklaring, og 15-20% av parkinsonspasientene har nære slektninger med Parkinson. Den arvelige faktoren ser ut til å ha størst betydning hos dem som får Parkinsons sykdom i ung alder.

Dagens behandling av parkinson går ut på å bedre pasientens livskvalitet og utsette sykdomsforløpet. Per i dag er det ikke mulig å stoppe sykdomsutviklingen. Effekten av

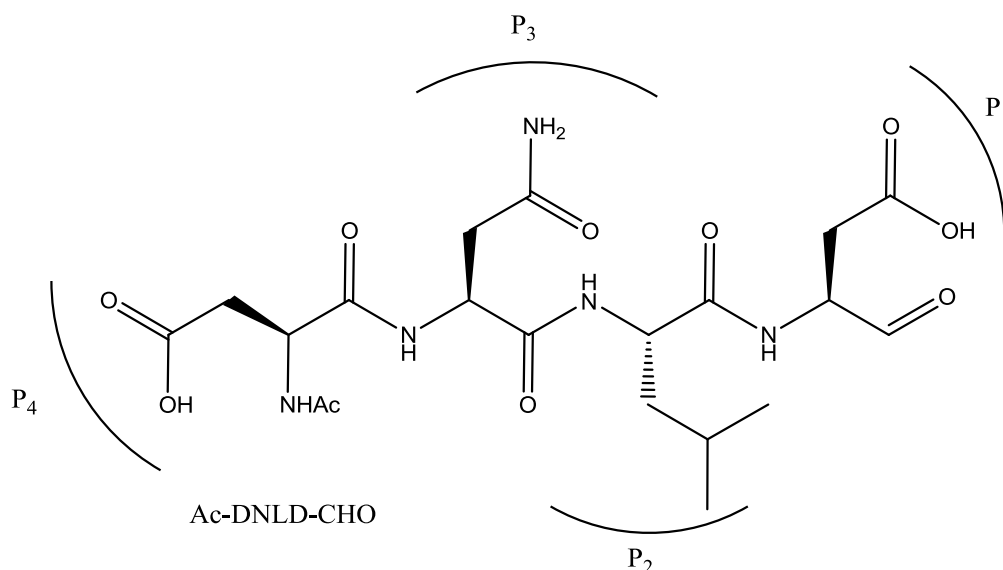
behandlingen vil i tillegg avta med tiden ettersom sykdommen utvikler seg. Konkret går behandlingen av parkinsonisme ut på å gi medikamenter som øker dopaminaktiviteten i dette området ^[6]. Ved å hemme caspaseaktiviteten ser man for seg en reduksjon i tapet av celler, og muligens en bedre behandling. Men utfordringene for å få til dette er som sagt mange.

1.3 Molekyler som har vist effekt overfor Caspaser

Det aktive sete i caspasene har fire domener som gjenkjenner og binder ligander. En typisk caspaseinhibitor består av et elektrofilt senter som skal reagere kovalent med SH-gruppen i det aktive sete, en aspartat del og en peptidomimetisk del ^[3]. Et eksempel på en slik struktur er Ac-DEVD-CHO. Det er vist at Ac-DEVD-CHO hemmer caspase-3 med K_i -verdier ned mot 0,3 nM. Molekylet er ikke spesifikt nok og viser i tillegg lave K_i -verdier overfor andre caspaser. Et annet lignende molekyl, Ac-DNLD-CHO, hemmer caspase-3, $K_i=0,68$ nM. Dette molekylet er mer selektivt og har ikke like lave K_i -verdier overfor de andre caspasene ^[8]. Bokstavene som betegner caspasehemmere er forkortelser for de kjemiske strukturelementene som molekylet er satt sammen av. (Ac – acetat, D – aspartat, E – glutamat, V – valin, N – asparagin, L – leusin, CHO – aldehydet) ^[9].



Figur 1.2 Struktur av Ac-DEVD-CHO



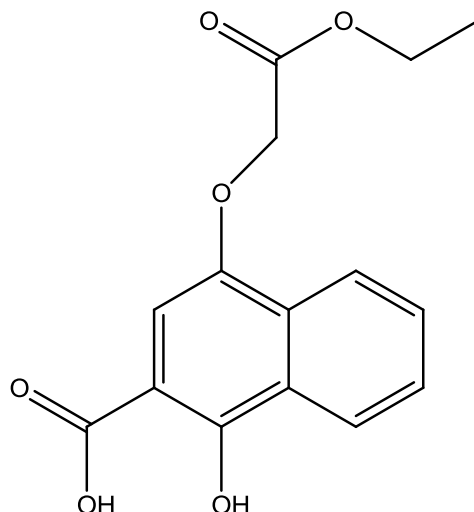
Figur 1.3 Struktur av Ac-DNLD-CHO

Ac-DEVD-CHO og Ac-DNLD-CHO er kommet frem til ved hjelp av rasjonell legemiddel design. Man vet strukturen på det aktive sete i enzymet man ønsker å hemme, og designer et molekyl ut fra det.^[8] Selv om denne typen molekyler viser lovende resultater i cellemodeller og enzymassay, oppstår det flere problemer når de skal administreres som legemiddel. Det elektrofile senteret kan potensielt reagere med alle nukleofiler i kroppen, ikke bare caspasene, og gjør aktiviteten uspesifikk. Peptidstrukturen bidrar til rask nedbrytning og inaktivering av molekylet og gjør biotilgjengeligheten dårlig. Det er derfor ønskelig og designe småmolekylære, ikkepeptidbaserte molekyler som hemmer caspasene selektivt.

En tilnærming forskere har til utviklingen av caspasehemmere er å ta utgangspunkt i peptidsekvensene beskrevet over og redusere peptidkjennetegnene, eller eventuelt å erstatte denne delen av molekylet med andre strukturelementer. I tillegg er det viktig å modifisere det elektrofile senteret til ”mykere” alternativer, som gjør molekylet mer spesifikke overfor targetenzymene.

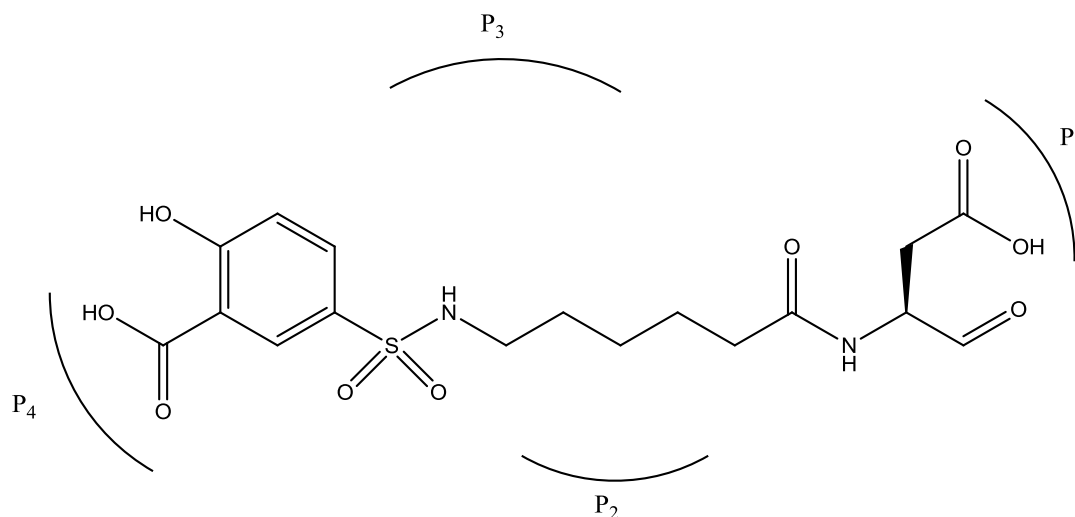
Ut fra strukturen til Ac-DNLD-CHO er det gjort ulike screeninger for å finne caspase-3 hemmere. Man har for eksempel sett på hvordan Ac-DNLD-CHO binder seg til reseptoren, og funnet ut at man kan bruke kun NLD-delen av molekylet som farmakoforfilter. Med det som utgangspunkt har man screenet etter molekyler som mimikerer bindingen av NLD til caspase-3 sitt aktive sete. Ved hjelp av denne metoden er det funnet et molekyl som hemmer caspase-3 med IC₅₀ verdi på 13,6 µM, samtidig som det har lite eller ingen effekt overfor andre caspaser. Molekylet kan fungere som lead comound for videre studier av caspase-3 hemmere.

[10]



Figur 1.4 Struktur av 4-(2-etoksy-2-oksoetoksy)-1-hydroksy-2-nafthalensyre

Det er i tillegg til screening varianten også gjort ulike forsøk på å modifisere peptidstrukturen i Ac-DNLD-CHO og Ac-DEVD-CHO ved hjelp av organisk-kjemiske metoder. Peptidkjeden er blitt erstattet av en alkylkjede, som linker det elektrofile senteret til de andre funksjonelle gruppene i farmakoforen. Det er også vist økt effekt hos molekylene ved å inkorporere ulike funksjonelle grupper i alkylkjeden, spesielt sulfonamider. Molekylet under viser en god affinitet overfor caspase 3 ($K_i=4,0 \mu\text{M}$)^[11]. Det er også dette molekylet som er utgangspunktet for oppgaven.

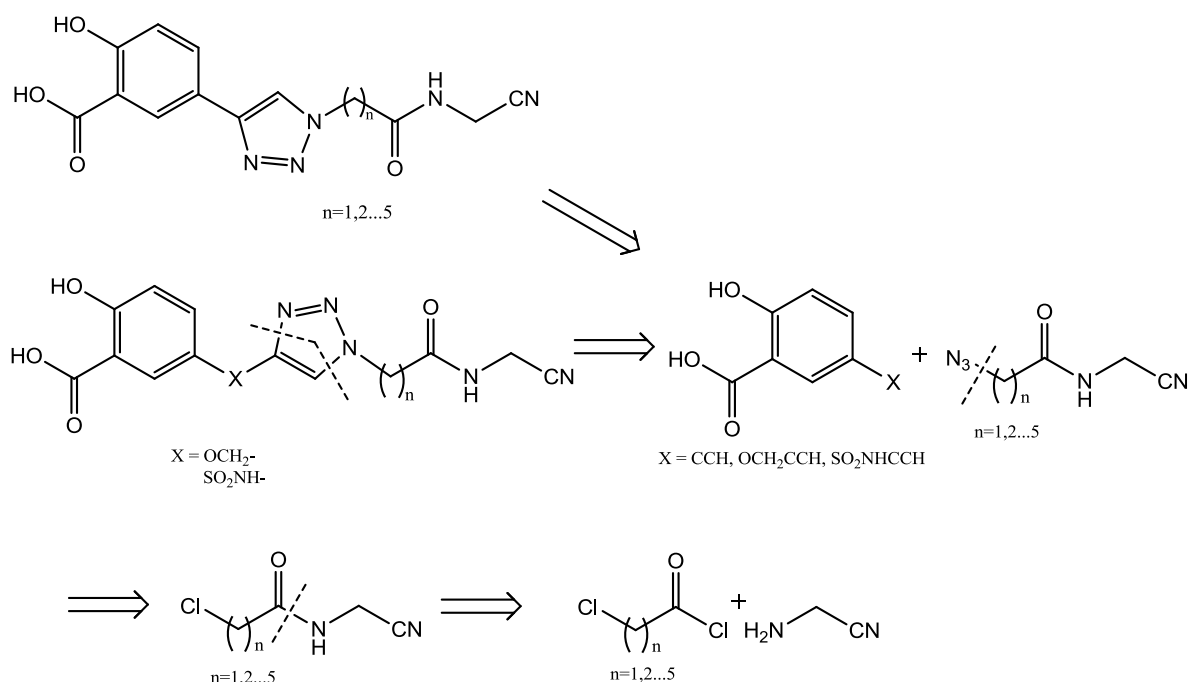


Figur 1.5: Struktur av istatinsulfonamid

1.4 Mål for oppgaven

Målet for oppgaven var å lage triazolanaloger av strukturen over og undersøke effekten av å endre kjedelengden mellom de funksjonelle gruppene, samt å undersøke effektiviteten ved å erstatte sulfonamid gruppen med en etergruppe eller å kutte den ut helt.

1.5 Retrosyntetisk analyse



Figur 1.5 Retrosyntetisk analyse av triazolanaloger av lead compound

Taktikken var å syntetisere byggesteinene først, for å til slutt gjøre sykloaddisjonsreaksjonene. Denne strategien er tidsbesparende, fordi man slipper å bygge hvert enkelt molekyl for seg. Dermed ble triazolen spaltet til alkynet og azidet.

Azidet ble videre spaltet til kloridet. Amidet i samme molekyl ble spaltet til syreklorid og aminoacetonitrill som begge er kommersielt tilgjengelige.

1.6 Syntese av 1,2,3-Triazoler

Klikk-kjemi er en fremgangsmåte som brukes for å generere substanser hurtig og enkelt.

Metoden går ut på å sette små enheter sammen til et større molekyl. Begrepet ble lansert for første gang av den amerikanske kjemiprofessoren K. Barry Sharpless i 2001^[12].

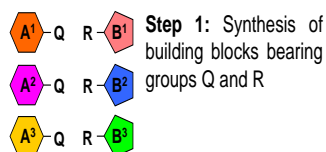
Eksempler på reaksjoner som er gode å bruke i klikk-kjemi^[12]:

- Sykloadisjon av umettede forbindelser, spesielt 1,3-dipolar sykloaddisjoner, men også andre sykloaddisjoner som for eksempel Diels-Alder.
- Nukleofile substitusjoner, spesielt reaksjoner som åpner små hetrosykliske elektrofiler med høy spenning som epoksider, aziridiner og aziridiniumioner.
- Karbonylkjemi av ikke-aldol typen som dannelsen av urea, thiourea, aromatiske hetrosykler, oksimetre, hydrazoner og amider.
- Addisjonsreaksjoner til karbon-karbon multiple bindinger, spesielt oksidative reaksjoner som epoksidering, dihydroksyleringer med mer.

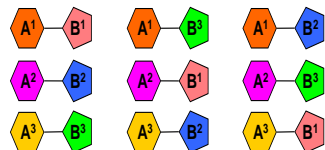
Reaksjonen mellom et terminalt alkyn og et azid, Huisgen 1,3-dipolar sykloadisjon, er den mest brukte, og er referert av K.B. Sharpless som "the cream of the crop of click chemistry"^[12]. Reaksjonen ble gjort kjent på 60-tallet av Rolf Huisgen, og senere modifisert. Spesielt viktig for bruken av reaksjonen i klikk-kjemi var oppdagelsen gjort av Tørnøe et. al. i 2001 hvor reaksjonen ble gjort under kobber katalyse. Det er denne reaksjonen som blir brukt i denne oppgaven for å sette sammen/kombinere de ulike byggesteiene til et ferdig molekyl.

1.6.1 *In situ* klikk-kjemi

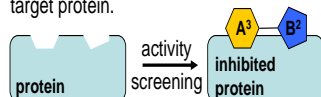
Conventional Lead Discovery



Step 2: Transformation of building blocks in combinatorial libraries. Building blocks A are connected to building blocks B in each possible combination, purified and characterized.



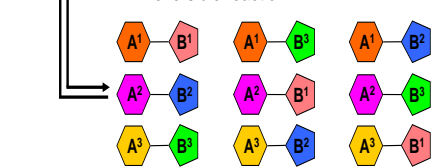
Step 3: Identification of hit compound via high-throughput screening methods. From all library compounds screened for activity, only shown compound binds to target protein.



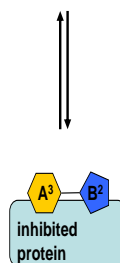
Dynamic Combinatorial Chemistry

Step 1: Synthesis of building blocks bearing reactive groups M and N.

Step 2: Transformation of building blocks in a dynamic combinatorial library. Building blocks A are connected to building blocks B in each possible combination via a reversible reaction.



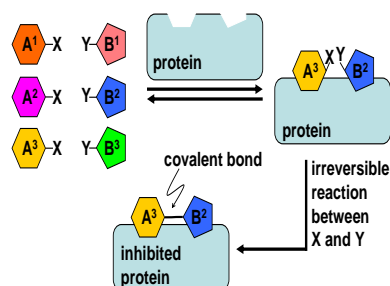
Step 3: Incubation of dynamic combinatorial library with biological target shifts the equilibrium toward the compounds with the strongest affinities.



Kinetically controlled Target-Guided Synthesis

Step 1: Synthesis of building blocks bearing reactive groups X and Y.

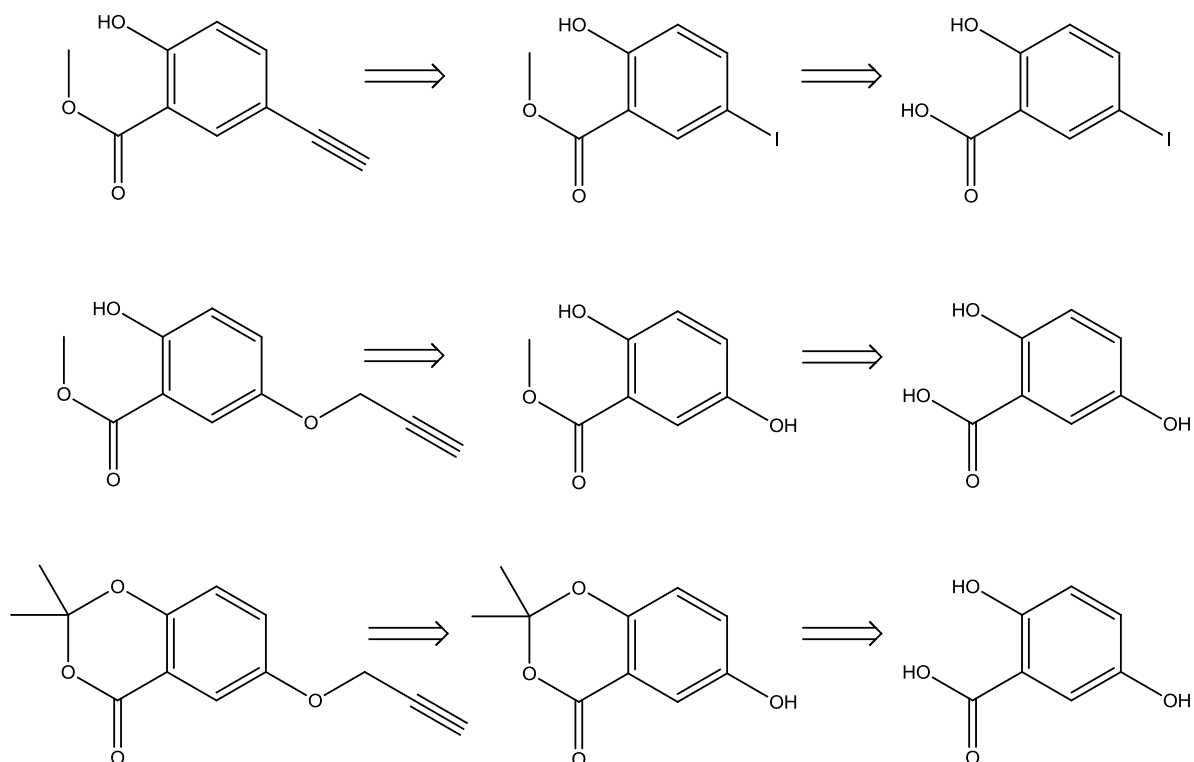
Step 2: Incubation of building blocks with the target protein. The protein binds initially the building blocks with the highest affinity. The enforced propinquity of the groups X (N₃) and Y (C≡C-H) accelerates the irreversible reaction with each other resulting in the formation of a covalent bond (triazole) between the two building blocks. The newly generated biligand molecule shows higher affinity compared with corresponding monovalent building blocks.



Figur 1.6: Teoretisk fremgangsmåte ved klikk-kjemi^[13]

1.7 Syntese av alkyner

Planen var at det skulle lages 3 alkyner. Men dessverre ble tiden for knapp til å lage sulfonamidet, så fokus ble rettet mot følgende alkyner:



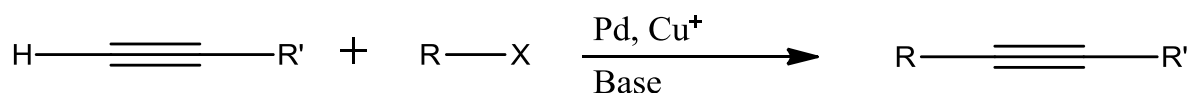
Figur 1.7 Retrosyntetisk analyse av alkynene

Strategien som ble brukt for å lage alkynene tok utgangspunkt i kommersielt tilgjengelige salisylsyrer substituert i 4-posisjon. For å lage alkynene som skulle være med klikk reaksjonen ble det første tilfellet utført en Sonogashira-kobling og det andre tilfellet en S_N2 -reaksjon med propargylbromid under basiske betingelser.

1.7.1 Sonogashira-reaksjoner

Sonogashira koblingen har fått navnet etter Kenkichi Sonogashira. Kenkichi Sonogashira er professor i kjemi ved Osaka University i Japan.

Den klassiske Sonogashirakoblingen forgår mellom et terminalt alkyn og halider som sitter på et sp^2 -hybridisert karbonatom, aryl/vinyl-halider^[14].



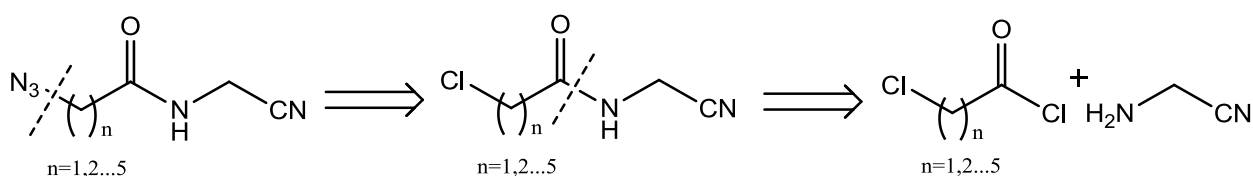
$\text{X}=\text{I, Br, Cl, OTf}$

$\text{R}=\text{Ar, alkenyl}$

Figur 1.8 Generell Sonogashira-kobling

For at reaksjonen skal fungere er det nødvendig med et Pd(0)-kompleks og et kobberhalid. Reaksjonen må skje i et basisk miljø for å nøytralisere hydrogenhalidet som blir dannet som et biprodukt^[14].

1.8 Syntese av azider

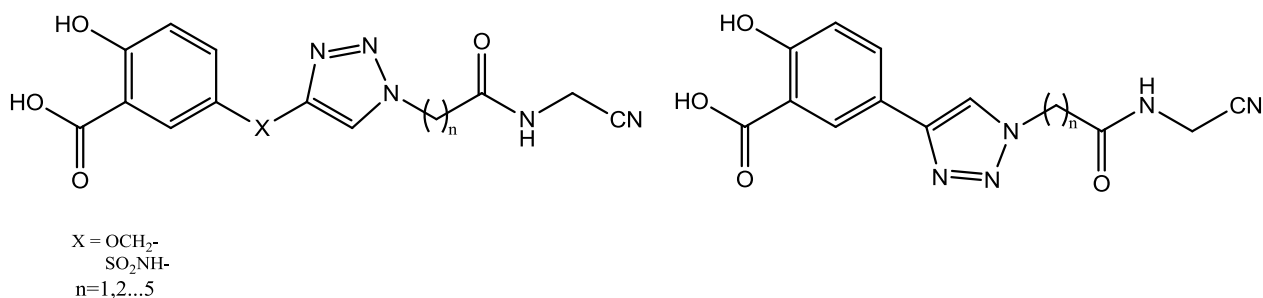


Figur 1.9: Retrosyntetisk analyse av azidene

For å lage azidene ble det lagt opp en strategi hvor amidene ble laget først, for deretter å gjøre en S_N2-reaksjon hvor et primært alkylhalid blir gjort om til et primært azid. Amiddannelsen vår ble gjort med tilstedeværelse av base (Et₃N).

I denne delen av prosjektet var det spesielt viktig å ha fokus på HMS, fordi stoffene som det arbeides med kan være helseskadelige og eksplosive.

1.9 Klikk kjemi – Syntese av de ferdige produktene



Figur 1.10: Produktene

De ulike byggesteinene ble satt sammen ved hjelp av ”klikk-kjemi”, nærmere bestemt kobber katalysert 1,3-dipolar sykloaddisjon, som er en reaksjon hvor et terminalt alkyn reagerer med et terminalt azid. Produktet blir en triazolring^[12].

Strukturen inneholder mange hetroatomer, for mange hvis man skal ta hensyn til ”Lipinski’s rule of 5” som kan fungere som retningslinjer for hvordan en API bør være^[15]. Andre momenter som må undersøkes i den sammenhengen er pK_a-verdi og molekylvekt. Med utgangspunkt i disse parameterne er det tvilsomt om sluttproduktet mitt vil innha de

farmakokinetiske egenskapene som skal til for å passere blod-hjerne-barrieren og nå frem til cellene i substantia nigra, hvor det er ment å virke.

2 Resultat og diskusjon

Forsøkene som ble utført er beskrevet i detalj, med fremgangsmåte og resultater i kapittel 4. Eksperimentelt. Strukturoppklaring og analyse av synteseproduktene ble gjort ved hjelp av proton- og karbon-NMR samt smeltepunkt for alle mellomprodukter som var faste stoffer. IR spektre på forbindelser som inneholder trippelbindinger og azider ble tatt opp. I tillegg skulle sykloaddisjonsproduktene analyseres ved hjelp av LC-MS.

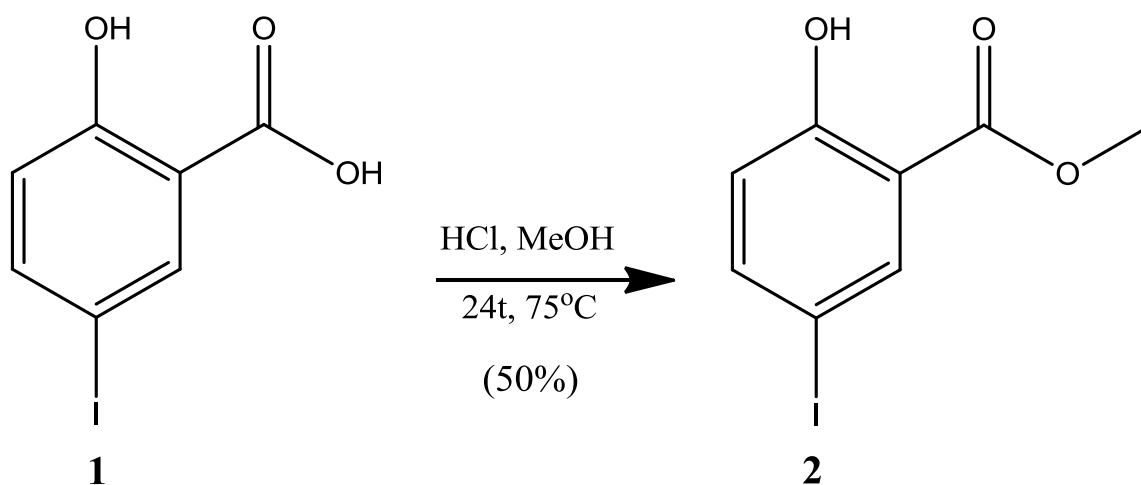
2.1 Syntese av salicylsyrederivater

2.1.1 Syntese av 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre

Forbindelse	Mengde (g/mg)	Mengde (mmol)	Utbytte (%)	NMR	IR	Smeltepunkt (°C)	Merknader
1	5,24 g	19,8		^1H			Kjøpt fra Sigma-Aldrich, hvitt pulver
2	2,74 g	9,9	50	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$		75-77	Hvitt pulver
3	1,24 g	5,0	95	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$		Olje	Rødbrun olje.
4	670 mg	3,8	76	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$	OK	53-54	Rødoransje krystaller
5	502 mg	3,1	81	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$	OK	69-71	Rødaktige krystaller

Tabell 2.1: Data til syntesen av 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre

Utgangstoffet for denne syntesen er 2-hydroksy-5-jodobenzosyre. Stoffet ble kjøpt fra Sigma-Aldrich.



Skjema 2.1: Reaksjonstrinn 1, syntese av metyl 2-hydroksy-5-iodbenzat

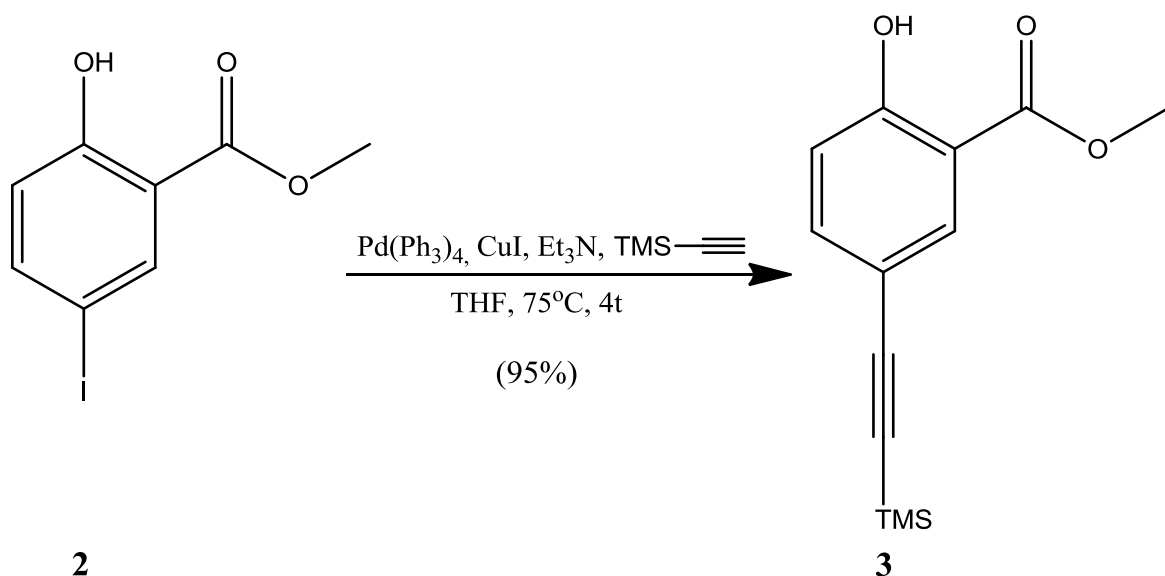
Det første trinnet i syntesen var en esterdannelse, og ble gjort for å lette arbeidet videre spesielt med tanke på opparbeidelse og rensing av reaksjonene. I tillegg er det en fordel å ha beskyttet syregruppen når man skal utføre en Sonogashira kobling. Opparbeidelsen av reaksjonen ble gjort ved hjelp av ekstraksjon. Reaksjonen ga moderat utbytte (50%). Det ble undersøkt og funnet ut at tilsvarende utbytte er normalt ved denne type reaksjoner^[16]. Utgangstoffet ble gjenvunnet i ekstraksjonen og brukt til å lage mer produkt.

¹H NMR spekteret for esteren, forbindelse **2**, viser en topp ved 3.86 ppm som integrerer for 3 protoner. Dette signalet kommer fra metylesteren som ble innført i denne reaksjonen. Resten av signalene i spekteret kommer fra ”grunnstrukturen” eller utgangstoffet i syntesen. Dubletten ved 6.82 ppm integrerer for 1 proton og har koblingskonstant $J=8.7$ Hz. Dette tyder på en *ortho*-kobling, siden normale koblingskonstanter for *ortho*-koblinger ligger i intervallet 6-10 Hz. Altså representerer signalet hydrogenet på karbon nummer 3 i aromaten, siden dette hydrogenet kobler *ortho* med hydrogenet på karbon 4. Det neste signalet kommer som en dobbel dublett med δ -verdi på 7.76 ppm, integrer for 1 proton og har koblingskonstanter på $J=2.3$ Hz og $J=8.7$ Hz. Koblingskonstanten på 8.7 Hz tyder på en *ortho*-kobling og koblingskonstanten på 2.3 Hz ligger innenfor intervallet for *meta*-koblinger (1-4 Hz). Signalet kan man dermed anta representerer hydrogenet på karbon 4 i aromaten, som kan koble *ortho* med hydrogenet på karbon 3 og *meta* med hydrogenet på karbon 6. Det neste signalet har δ -verdi på 7.98 ppm, integrerer for 1 proton og har en koblingskonstant på 2.3 Hz. Signalet representerer protonet på karbon 6 i aromaten som kobler *meta* med protonet på karbon nummer 4. Det siste signalet i spekteret med kjemiskskift verdi på 10.47 ppm, stammer fra hydrogenet i OH-gruppen på karbon nummer 2 og kommer som en singlett. Når man ser på tabeller over hvordan hydroksylgrupper skal komme er dette forholdsvis høyt til en OH-gruppe å være. Forklaringen er at hydrogenet er intramolekylært hydrogenbundet til karbonylen og får deshieldingeffekter fra den i tillegg til effekten fra oksygenet i gruppen. DMSO-*d*₆ vises som en pentet ved 2.5 ppm.

¹³C NMR spekteret viser 8 signaler som stammer fra de 8 karbonatomene i målmolekylet. Signalet fra metylgruppen i esteren kommer med lavest kjemiskskift verdi (52.57 ppm). De andre signalene stammer fra ”grunnskjellettet” i strukturen. Signalet med kjemiskskiftverdi på 167.41 ppm representerer karbonet i karbonyllen. Når det gjelder de aromatiske signalene er det vanskelig å avgjøre hvilket signal som stammer fra hvilket karbonatom, men antar at signalet med kjemiskskift verdi på 159.22 ppm stammer fra karbon 2 i aromaten. Grunnen til det er fordi det får deshieldingeffekter fra oksygenet i hydroksylgruppen som sitter på.

Signalet ved 80.81 ppm antar jeg representerer karbon 5 i aromaten, som har jod bundet til seg. Grunnen til det er at dette signalet er endret i ^{13}C NMR spekteret til forbindelse **7** (side 17/18), som har en OH-gruppe i den posisjonen.

Smeltepunktet på 75°C - 77°C , var omtrent som referert i litteraturen: 74°C - 75°C ^[16].



Skjema 2.2: Reaksjonstrinn 2, syntese av metyl 2-hydroksy-5-((trimetylsilyl)etynyl)benzoat

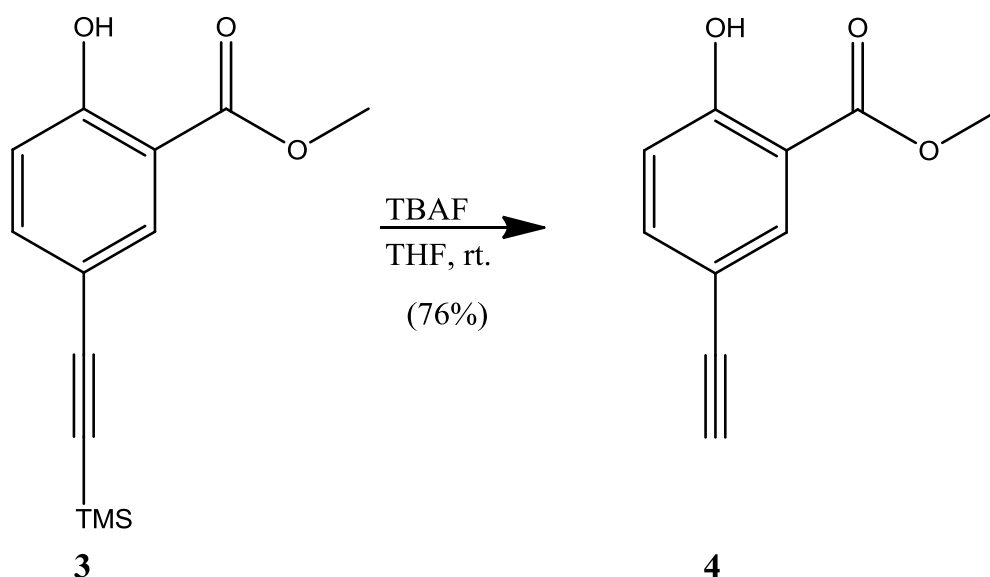
Trinn 2 var en Sonogashira kobling^[14]. Reaksjonen ble gjort under tørre betingelser, fordi paladiumkomplekset som katalyserer reaksjonen er ustabilt, og kan degradere ved kontakt med oksygen^[17]. Reaksjonen ble derfor utført under kontinuerlig tilførsel og utskifting av Argon gass og med tørket glassutstyr. Det som var problematisk med denne reaksjonen var opparbeidelsen. Polariteten på produktet var omtrent lik polariteten på utgangstoffet, det ble dermed vanskelig å få en god separasjon av stoffene på silika. Det ble prøvd en del varianter av elueringsmiddel (EtOAc:heksan 1:1, EtOAc:heksan 4:6, EtOAc:heksan 3:7 heksan:aceton 19:1). Valget falt til slutt på kombinasjonen heksan:aceton 19:1, forskjellen i Rf-verdi (Δ -Rf) for de to stoffene var 0,07, med denne sammensetningen av elueringsmiddel.

Utbytte av reaksjonen var på 95%, som er bra med tanke på litt problemer i opparbeidelsen. Produktet var en olje, noe man kunne tenkt seg til på forhånd da TMS-gruppen gjør forbindelsen flyktig. Innføring av TMS-gruppen kan brukes i forbindelse med GC til å gjøre ikke flyktige forbindelser mer flyktige^[18].

NMR spektrene til forbindelse **3** er nokså like NMR spektrene til forbindelse **2**.

Grunnskjelettet er det samme og beskrevet for forbindelse **2**. Forskjellen på ^1H NMR er en stor singlett med kjemisk shift verdi på 0.17 ppm som integrer for 9 protoner i TMS-gruppen.

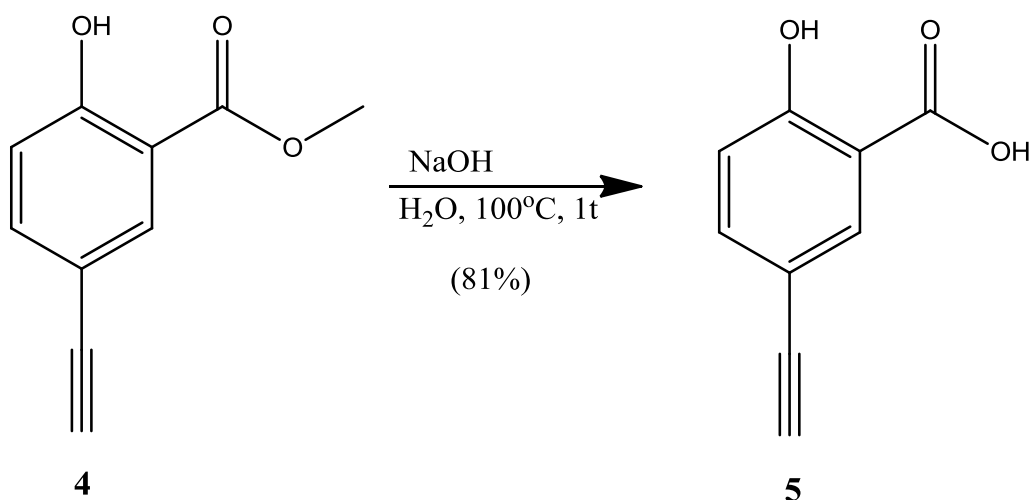
^{13}C NMR spekteret viser det tre topper som ikke spekteret til forbindelse **2** viser, i tillegg er det en topp som forskyves på grunn av endring i substitusjonen. Den store toppen med kjemiskshiftverdi på 0.13 ppm stammer fra de tre karbonatomene i TMS gruppen. Signalet med kjemiskskift verdi på 93,09 får deshilding effekt fra π elektronene i trippelbindingen og stammer fra det karbonet i trippelbindingen som er nærmest TMS gruppen. Signalet med kjemisk shiftverdi på 104,34 ppm får deshildingseffekter både fra trippelbindingen og aromaten og signalet representrer karbonet som sitter nærmest aromaten i trippelbindingen. Signalet som er forskjøvet stammer fra karbon nummer 5 i aromaten og er forskjøvet fra 79.80 ppm til 113.39 ppm. Grunnen til at det er forskjøvet er fordi det er innført en trippelbinding som gir mer deshilding enn jod, og signalet forskyves derfor "downfield" på spekteret.



Skjema 2.3: Reaksjonstrinn 3, syntese av metyl 5-etynyl-2-hydroksybenzoat.

I reaksjonstrinn 3 ble TMS-gruppen fjernet ved hjelp av TBAF. Dette var en grei reaksjon å utføre og utbytte var på 76 %. Polariteten på produkt og utgangstoff var forholdsvis lik og problemet med separasjon på silika gjorde seg også gjeldene her. På tross av disse problemene var det ønskelig å få rensset dette produktet slik at opparbeidelse av syren i neste trinn var enklest mulig.

Produktet var lett å identifisere både på ^{13}C NMR og ^1H NMR, forandringen fra utgangstoffet var at de store TMS toppene med lav kjemiskskift verdi var borte. Det ble i tillegg brukt et annet løsemiddel til prøvene i forholdt til tidligere i syntesen. DMSO- d_6 ble byttet ut med CDCl_3 , som gjorde at δ -verdiene ble noe forskjøvet i forhold tidligere.



Skjema 2.4: Reaksjonstrinn 4, syntese av 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre

Reaksjonstrinn 4 gikk ut på å hydrolysere esteren til syre. For å gjøre det ble det brukt base, vandig NaOH. Reaksjonen ble fulgt på TLC og produktet var dannet etter kort tid, ca. 1 time. Reaksjonen ble opparbeidet ved hjelp av ekstraksjon og flashkromatografi, utbytte var 81%.

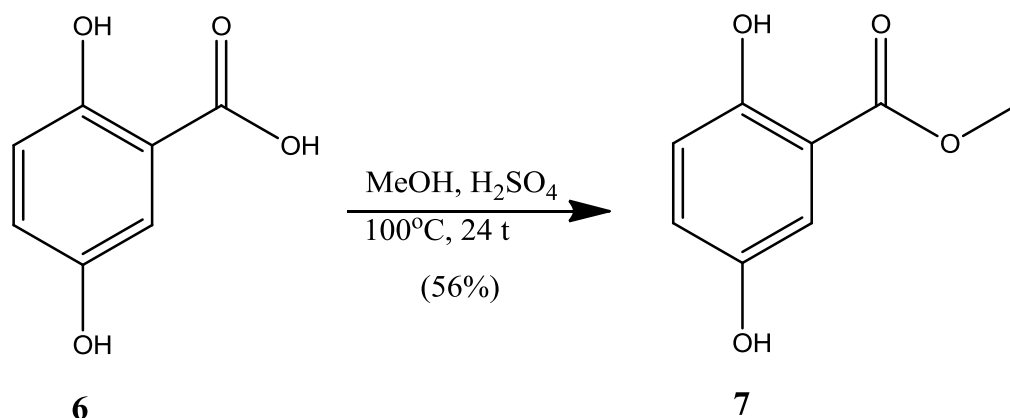
Identifiseringen av produktet på NMR gikk ut på å undersøke om signalene ved 3.93 ppm på ¹H NMR og 52.95 ppm på ¹³C NMR, som karakteriserer metylesteren er forsvunnet. Signalet for hydrogenet på syregruppen kom ikke frem på spekteret. Et problem som dukket opp var at det ble brukt to ulike løsemidler til å ta opp spekterene med. Dette fikk utslag ved at hydrogenet på trippelbindingen endret kjemiskskift verdi fra 2.97 ppm i CDCl₃ til 4.04 ppm i DMSO-*d*₆, i tillegg kom de tre hydrogenene i metylesteren ut med en kjemiskskift verdi i CDCl₃ på 3.93 ppm. Dette gjorde strukturoppklaringen litt utfordrende. Men integralet på toppene og antall topper i spekteret var til god hjelp for å finne ut at det var riktig produkt. IR-spekteret viser to signaler som er enkle å forklare. Signalet ved 2306 cm⁻¹ representerer C≡C strekket i trippelbindingen og signalet ved 1682 cm⁻¹ representerer C=O karbonyllgruppen i syregruppen^[19]. Absorpsjonene for OH-gruppene kom ikke klart frem i IR-spekteret.

2.1.2 Syntese av 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoesyre

Forbindelse	Mengde (mg)	Mengde (mmol)	Utbytte (%)	NMR	IR	Smeltepunkt (°C)	Merknader
6	771	5		$^1\text{H}/^{13}\text{C}$			Kjøpt fra Sigma-Aldrich, hvitt pulver
7	471	2,8	56	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$		86-87	Hvite krystaller
8	425	2,1	79	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$	OK	71-72	Hvitt pulver, elektrostatisk

Tabell 2.2: Data til syntesen av 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoesyre

Utgangsmolekylet for denne syntesen er 2,5-dihydroksybenzoesyre, som ble kjøpt fra Sigma-Aldrich.



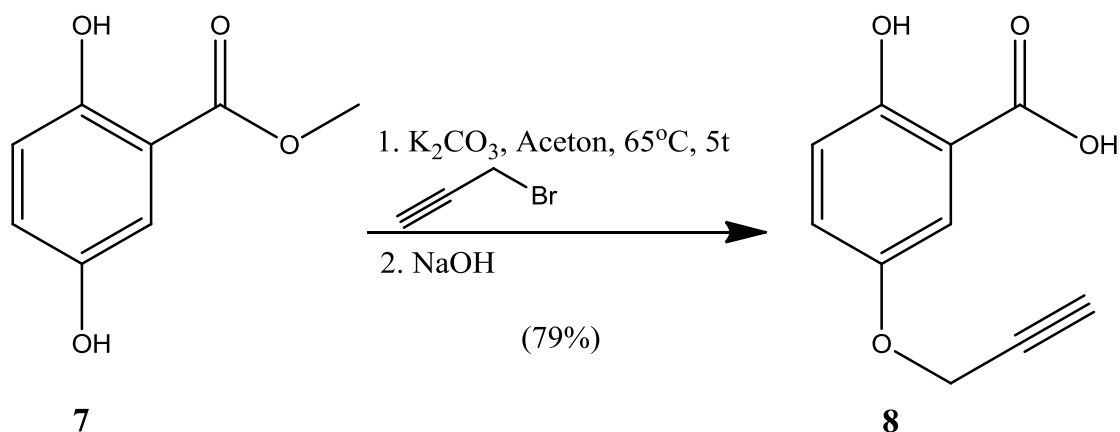
Skjema 2.5: Syntese av 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoesyre

Det første trinnet var en esterdannelse for å beskytte karboksylsyren. Fremgangsmåten er omtrent den samme som det første trinnet i syntesen av 5-etynyl-2-hydroksybenzoesyre. Forskjellen var at det her ble brukt svovelsyre i stede for saltsyre, og at reaksjonen ga noen prosent høyere utbytte, 56 % mot 50 %. Reaksjonen ble opparbeidet med en ekstraksjon der vannfasen var mettet med bikarbonat slik at det var mulig å skille rester av utgangstoffet og produktet i de to ulike fasene. Bikarbonat deprotonerer karboksylsyren men ikke fenolene, og gjør at karboksylsyren løser seg i vannfasen.

^1H NMR spekteret viste seks tydelige signaler. Singletten med kjemiskskift verdi på 3.95 ppm integrerer for tre hydrogen og stammer fra metylesteren. Den lave breie singletten ved 5.08 ppm, stammer fra hydroksylgruppen på karbon nummer 5 i benzenringen. Dette signalet stammer fra en vanlig fenol som ikke deltar i noen hydrogenbinding får dermed mye lavere kjemiskskift verdi enn signalet som representerer OH-gruppen på karbon 2, som kommer med kjemiskskiftverdi på 10.38 ppm. De aromatiske signalene har samme koblingsmønster som

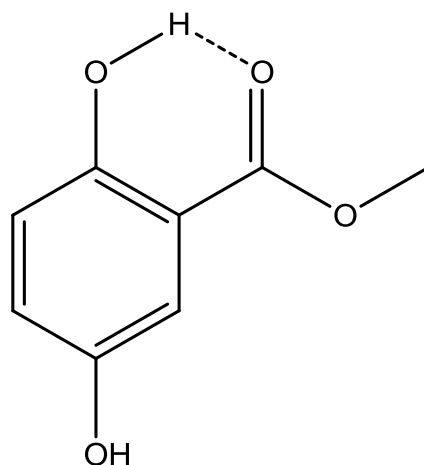
beskrevet på for forbindelse to. Dubletten med δ -verdi på 6.91 ppm stammer fra hydrogenet på karbon 3 som kobler med hydrogenet på karbon 4 gjennom en *ortho*-kobling. Hydrogenet på karbon 4 kobler i tillegg *meta* med hydrogenet på karbon 6 og kommer derfor som en dobbel dublett med δ -verdi på 7.04 ppm. Hydrogenet på karbon 6 kobler bare *meta* og kommer som en dubett med δ -verdi på 7.30 ppm.

^{13}C NMR-spekteret er også forholdsvis likt med det som er diskutert for forbindelse **2**. Den viktigste forskjellen er at signalet som representerer karbon 5 i forbindelse **2** er forskjøvet fra 80.81 ppm til 147.95 ppm. Grunnen til det er at jod i forbindelse **2** er byttet ut med en hydroksylgruppe i forbindelse **9**. Det er i tillegg brukt to forskjellige løsemidler som gjør at toppene forskyves ytterligere i NMR spekterene.



Skjema 2.6: Reaksjonstrinn 2, syntese av 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzosyre

De to neste trinnene i syntesen av 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzosyre tok utgangspunkt i en artikkel publisert i 1993 av Brown og Whitlock^[20]. Reaksjonen er en $\text{S}_{\text{N}}2$ -reaksjon der hydroksylgruppen på karbon 5 er nukleofil og propargylbromid elektrofil, Br^- ioner er utgående gruppe. Siden molekylet har to hydroksylgrupper, kan det forventes flere ulike produkter. Likevel viser det seg at propargyleringen er regioselektiv. Årsaken til det er at seksringen, som dannes ved hydrogenbindingen mellom karbonylgruppen og hydrogenet på OH-gruppen på karbon 2, er forholdsvis mindre reaktiv. OH-gruppen på karbon 5 er 10^2 ganger surere enn OH-gruppen på karbon 2^[21]. Det er også rapportert at metylering^[22] og allyllering^[23] på denne type forbindelser i hovedsak skjer på karbon 5.



Figur 2.1: Forbindelse 7 med hydrogenbinding mellom OH-gruppen på karbon 2 og karbonylgruppen.

NMR-spekterene av produktet, forbindelse **8**, viser et forholdsvis rent produkt. Riktignok er det på ^1H NMR spekteret en tydelig heving av grunnlinja mellom 3 og 4 ppm, men det er ingen forurensninger på ^{13}C NMR spekteret. Bulken kan representere protonene på OH-gruppene, som ikke vises på annen måte i spekteret. Et annet alternativ er at det kan være vann som har sneket seg med i prøven, enten via produktet eller i løsemiddelet ($\text{DMSO-}d_6$). I tillegg til bulken og signalene som er kjent fra tidligere, inneholder spekteret to tydelige signal som kommer fra protonene på substituenten som ble innført i reaksjonen. Et av disse signalene kommer som en triplett, integrerer for et hydrogen, med koblingskonstant $J=2.4$ Hz og en kjemiskshiftverdi 1.55 ppm. Signalet stammer fra protonet på trippelbindingen som kobler med de to hydrogenene som sitter på metylgruppen mellom oksygenet og trippelbindingen. Det andre signalet representerer disse to hydrogenene og kommer som en dublett med kjemiskshiftverdi på 4.76 ppm, integrerer for 2 protoner. Koblingskonstanten er også her på 2.4 Hz noe som tyder på at disse to signalene kobler med hverandre.

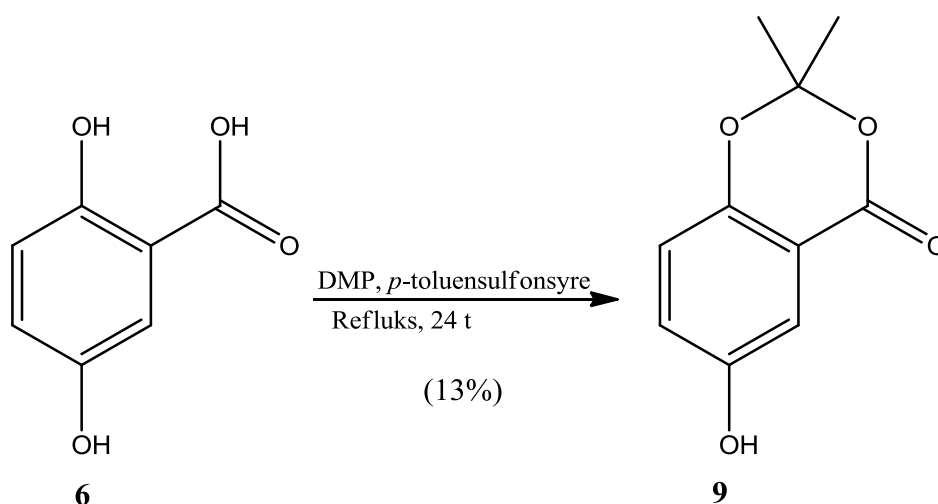
I tillegg til løsemiddeltoppen viser ^{13}C NMR spekteret 10 signaler, et for hvert karbonatom. Den toppen som kommer øverst i spekteret ved 56.14 ppm, stammer fra karbonatomet på CH_2 -gruppen mellom trippelbindingen og aromaten. De neste to signalene med kjemiskshiftverdi på 78.33 ppm og 79.24 ppm, stammer fra de to karbonatomene i trippelbindingen. Det er vanskelig å avgjøre hvilket signal som representerer hvilket av de to karbonatomene, men regner med at karbonatomet nærmest aromaten vil få litt mer deshieldingeffekter enn karbonatomet lengst unna, og dermed ha høyere kjemiskshiftverdi. Resten av signalene i spektret kommer fra grunnstrukturen og er forklart tidligere.

IR-spekteret viser tre topper å ta hensyn til. Den breie toppen ved 3235 cm^{-1} representerer O-H strekket i alkoholen. Bredden på toppen kan være en indikasjon på at den er hydrogenbundet til karbonylen. Den smale toppen ved 2254 cm^{-1} representerer $\text{C}\equiv\text{C}$ strekket i trippelbindingen. Toppen ved 1682 cm^{-1} representerer $\text{C}=\text{O}$ strekket. De to første verdiene er innenfor intervallet som er skissert^[19], den siste verdien er litt under intervallet for karboksylsyrer, men tilsvarer hva verdien i forbindelse **5**.

2.1.3 Syntese av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4H-benzo[d][1,3]dioksin-4-on

Forbindelse	Mengde (g/mg)	Mengde (mmol)	Utbytte (%)	NMR	IR	Smeltepunkt	Merknader
6	1,55g	10		$^1\text{H}/^{13}\text{C}$			Kjøpt fra Sigma-Aldrich, hvitt pulver
9	259mg	1,3	13	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$		74-75°C	Hvite pulver
10	256mg	1,1	83	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$		68-70°C	Hvitt pulver, elektrostatisk

Tabell 2.3: Data til syntesen av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4H-benzo[d][1,3]dioksin-4-on

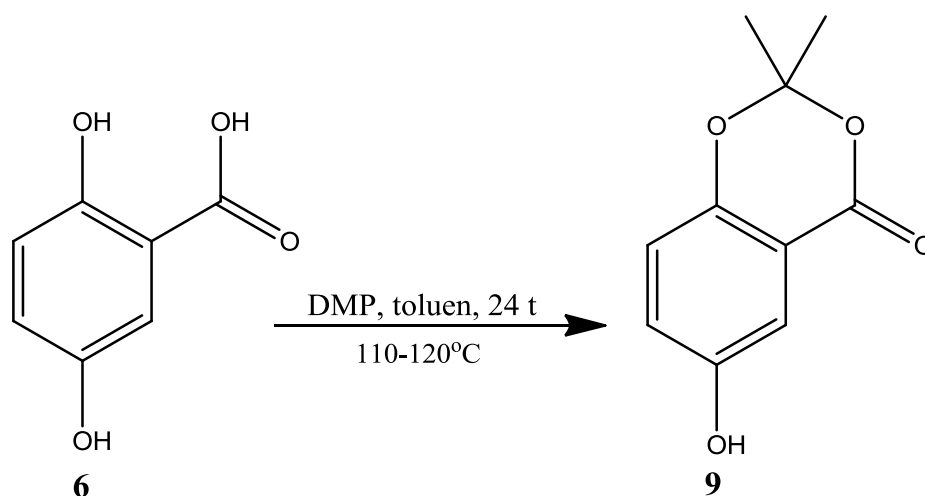


Skjema 2.7: Syntese av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4H-benzo[d][1,3]dioksin-4-on

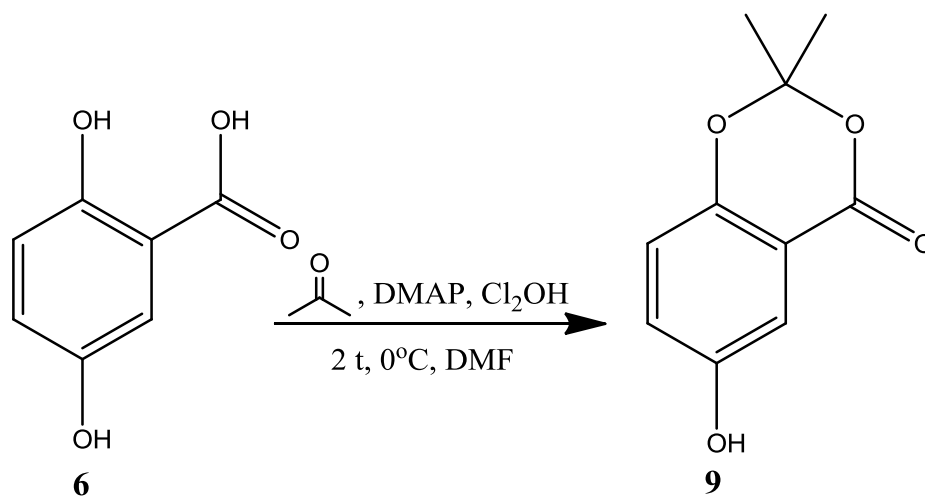
Syntesen av forbindelse **10** tar utgangspunkt i samme prosedyre som syntesen av forbindelse **8**^[20], utgangsmolekylet er også det samme. Poenget med å gjøre denne syntesen var fordi vi ønsket å undersøke om den kobberkatalysertreaksjonen gikk bedre hvis den ble gjort med beskyttet salisylsyre del. Planen var å avbeskytte salisylsyre delen i produktet. Den andre delen av de ferdige molekylerne inneholder et amid, og for at denne tilnærmingen skulle være hensiktsmessig var det viktig å velge en beskyttelsesgruppe der avbeskyttelsen ikke hydrolyserer amidet. Esteren var dermed uegnet, og valget falt på acetalet, som lett hydrolyserer tilbake i et svakt surt miljø^[24].

Utbytte av reaksjonen var dårlig, men stoffet var enkelt å opparbeide ved hjelp av ekstraksjon og kromatografi. Reaksjonen ble gjort flere ganger med omtrent samme utbytte. Det ble også

gjort noen forsøk på å fremstille produktet på andre måter (fig. 2.2 & 2.3), som ga enda dårligere utbytte, <5 % i tillegg var produktene var urene:



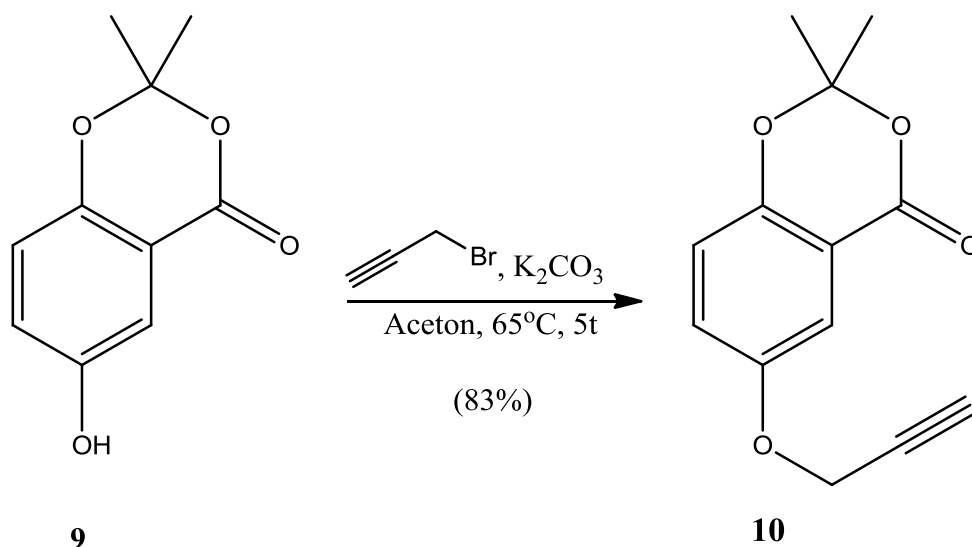
Figur 2.2: Det første forsøket som ble gjort på å fremstille forbindelse **9** tok utgangspunkt i et patent^[25].



Figur 2.3: Det andre forsøket på å fremstille forbindelse **9** tok utgangspunktet i arbeidet til Kamisuki et al.^[26]

¹H NMR-spekteret av produktet karakteriseres av en stor topp med kjemiskshift verdi på 1.64 ppm, toppen kommer som en singlett og integrer for 6 protoner. Det vil si at toppen representerer protonene som sitter på begge metylgruppene i acetalet og at disse metylgruppene er likeverdige. I ¹³C NMR spekteret kommer karbonatomene i metylgruppene ut som et signal med kjemiskshift verdi på 25.21 ppm. Resten av spektrene er omtrent som

spekteret for forbindelse **7** som er diskutert tidligere i oppgaven. Det sterke signalet som kommer ved 3.40 ppm på ^1H NMR spekteret er vann fra $\text{DMSO-}d_6$. Det ble undersøkt nærmere ved at det ble kjørt en prøve med bare $\text{DMSO-}d_6$, og den samme toppen var fortsatt der. At det er vann kan man anta ved å se på ^{13}C NMR at det ikke er noen ekstra topp i det spekteret. Det er i tillegg rapportert at vann kommer som en singlett rundt 3.40 ppm i $\text{DMSO-}d_6$ ^[27].

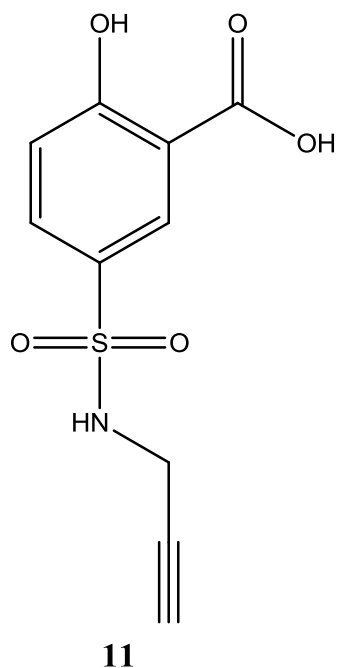


Skjema 2.8: Reaksjonstrinn 2, syntese av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4H-benzo[d][1,3]dioksin-4-on

Det andre trinnet i syntesen av forbindelse **10** tilsvarer det andre trinnet i syntesen av forbindelse **8**. Forskjellen er at hydrolyseringen av beskyttelsesgruppen måtte unngås. Opparbeidelsen ble dermed omtrent den samme bortsett fra at NaOH ble kun brukt til å rense bort rester av ureagert utgangstoff. Produktet har ingen aromatiske hydroksylgrupper eller frie syregrupper og løser seg dermed dårlig i basisk vannfase. Utbytte av reaksjonen var litt høyere enn samme reaksjon i syntesen av forbindelse **8**. Årsaken til det kan muligens være at den andre aromatiske hydroksylgruppen er beskyttet.

^1H NMR spekteret har fortsatt singletten ved 1.70 ppm som integrerer for de 6 protonene i beskyttelsesgruppen. I tillegg har spekteret fått signalene, som er beskrevet tidligere, for substituenten som er innført. Spekteret har også de kjente signalene fra de tre protonene som sitter på benzenringen. I ^{13}C NMR spekteret er også alle signalene kjent fra tidligere. De to signalene ved 76.30 ppm og 78.12 ppm, kommer med løsemiddelsignalet til CDCl_3 . Signalene representerer karbonene som inngår i trippelbindingen. De 7 siste signalene er kjent fra tidligere, og kommer fra aromaten og karbonet i karbonylgruppen.

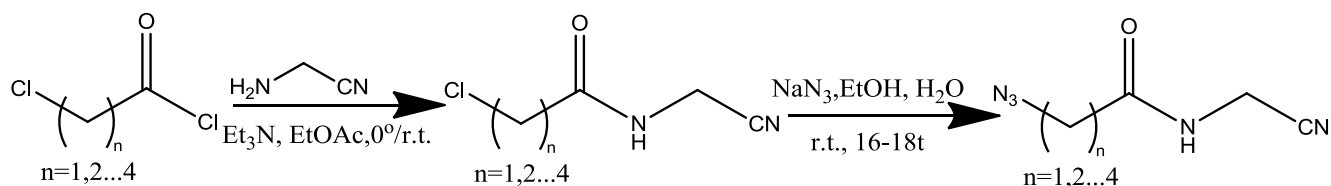
2.1.4 2-Hydroksy-5-(*N*-(prop-2-yn-1-yl)sulfamoyl)benzosyre



Figur 2.4: Struktur av 2-hydroksy-5-(*N*-(prop-2-yn-1-yl)sulfamoyl)benzosyre

I den opprinnelige prosjektbeskrivelsen ble det foreslått å bruke ytterligere et salisylsyrederviat, forbindelse **11**. Forbindelsen ble ikke syntetisert, men det ble undersøkt og funnet ut at forbindelsen kan kjøpes fra Ambinter eller Aurora Fine Chemicals Ltd.

2.2 Syntese av azider

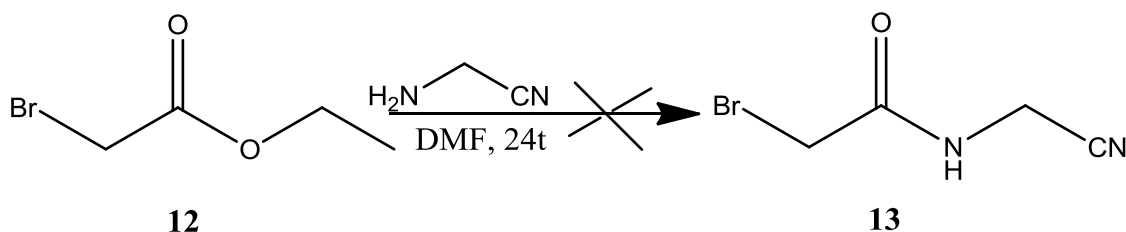


Skjema 2.9: Oversikt over syntese av azider.

Denne delen av molekylet var utfordrende å jobbe med, fordi det viste seg at amidet var ekstremt hydrofilt som gjorde opparbeidelsene av reaksjonene vanskelige. I tillegg viste det seg at amidet dekomponerer ved lengre kontakt med silika, noe som gjorde produktene uegnet for flash kromatografi. Dermed var det en stor utfordring å rense produkter som kunne brukes i sykloaddisjonsreaksjonen.

Det første trinnet i syntesen gikk ut på å lage amider. Den beste og enkleste måten å lage amider på er å ta utgangspunkt i estere og bruke koblingsreagenser, som for eksempel HATU. Koblingsreagensene var ikke på vårt lager. Det ble derfor prøvd å lage amidet på andre måter. Det ble undersøkt flere ulike varianter:

1. Den første varianten som ble undersøkt var å ta utgangspunkt i en syre og lage syrekloridet ved bruk av oksalyllklorid. Syrekloridet skulle deretter kobles til et amid med aminoacetonitrill. Reaksjonene var i "one pot". Denne reaksjonen ga ikke noe utbytte etter å ha prøvd samme reaksjon flere ganger, og metoden ble dermed forkastet. Det ble antatt at problemet var i forbindelse med dannelsen av syrekloridet.
2. Det neste forsøket ble bare gjort en gang, og gikk ut på å ikke gå veien om syreklorid, men la aminoacetonitrillen være base å prøve å reagere den direkte med en ester. Denne varianten resulterte heller ikke i noe produkt.

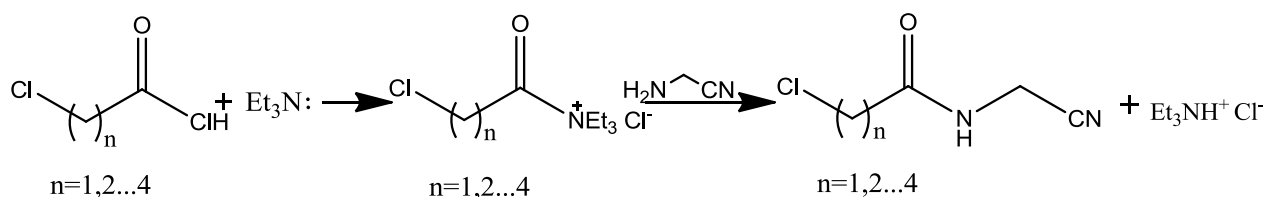


Skjema 2.10: Forsøk 2 på amidsyntesen.

3. Det neste forsøket gikk ut på å starte med syrekloridet, og bruke trietylamin som base og DMF som løsemiddel. Det var tydelig å se at det ble dannet produkt på TLC, men

4. Fjerde forsøket på å lage amidet var ikke veldig annerledes enn det tredje bortsett fra at løsemiddelet var endret fra DMF til EtOAc. Grunnen til det er at EtOAc ikke er blandbar med vann samtidig som det kan fjernes ved hjelp av inndamping. Det ble også prøvd med diklormetan, men her var utgangststoffene tungt løselige. Opprensingen av reaksjonen ble gjort ved først å dampe inn EtOAc for deretter å løse det i EtOH og filtrere produktet 5-8 ganger gjennom silika/celite med sug. Silika/celite-pluggen ble byttet for hver filtrering. Det var denne metoden som viste seg å være den minst dårlige til å lage amidene.

Syntesen av amidene forgikk under tørre betingelser. Et viktig poeng i syntesen er også fremgangsmåten. Syrekloridet ble løst i løsemiddelet (DMF, EtOAc etc.) og blandet på isbad. Ny destillert Et_3N ble tilsatt dråpevis over 10-15 minutter. Etter at blandingen hadde stått ytterligere 30 minutter på isbad, ble det tilsatt en løsning av Et_3N , aminoacetonitril og løsemiddelet dråpevis over 10-15 minutter. Denne litt omstendelige fremgangsmåten var nødvendig for at syrekloridet og Et_3N skulle få tid til å reagere og danne intermedietet. Et_3N ble valgt som base fordi den er mye brukt i forbindelse med amiddannelse fra syreklorider, og spiller en viktig rolle i reaksjonen med å nøytralisere saltsyren som dannes.



Grunnen til at denne reaksjonen ble kjørt under tørre betingelser, er fordi syrekloridet ikke skal ha mulighet til å reagere med vann og danne biprodukter. Selv om både Et_3N og EtOAc var destillert kort tid før reaksjonene ble gjort, og glassutstyret hadde lagt i varmeskap, er en åpenbar feilkilde at reagensene som ble brukt ikke var fullstendig frie for vann.

26

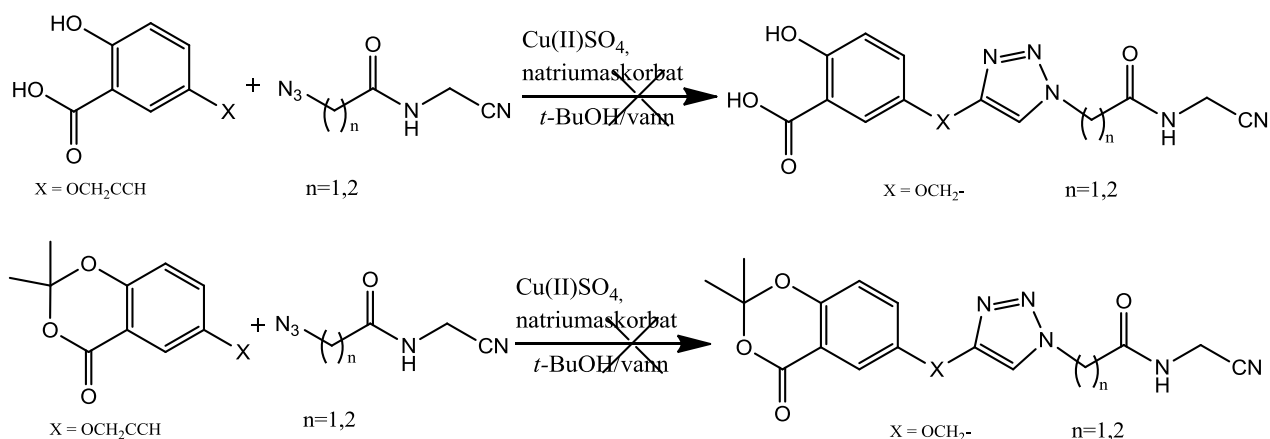
protonene på metylgruppen på aminoactonitrilldelen. Hydrogenene kobler med hydrogenet som sitter på nitrogenet med koblingskonstant på 6.27 Hz. Det andre fellestrekket for disse produktene, er en bred topp i med høy kjemiskskift verdi 7-9 ppm, som representerer hydrogenet på nitrogenet i amidet. Signalene fra alkylkjeden vil variere etter antall karbon i kjeden. For $n=1$ vil de to hydrogenene vises som en singlett med kjemiskskift verdi på 4.18 ppm. For $n=2$ kommer det to tripletter, som kobler med hverandre ($J=6.26$ Hz). Den ene tripletten har δ -verdi på 3.80 ppm og den andre tripletten har δ -verdi på 2.65 ppm. Tripletten med høyest kjemiskskift verdi stammer fra protonene som sitter nærmest karbonylgruppen.

Produktene ble gjort om til azider ved hjelp av en S_N2 -reaksjon hvor det primære alkylhalidet ble byttet ut med N_3^- . Metoden er beskrevet i den eksperimentelle delen. På grunn av stoffenes hydrofile egenskaper var det viktig å bruke minst mulig vann for å løse NaN_3 . Dette for å unngå problemer med opparbeidelsen av produktet. Reaksjonen var enkel og resultatet før opparbeidelsen viste et forholdsvis rent produkt som inneholdt en del vann. Siden vann blir brukt som løsemiddel i neste trinn, valgte jeg å ikke bry meg om det og gå videre med den kobberkatalyserte sykloaddisjonsreaksjonen.

2.3 Cu(I) katalysert Huisgen Sykloaddisjon

Prossedyren for klikkreaksjonen gikk ut på å reagere alkynet og azidet i et 1:1 forhold med *tert*-BuOH/ H_2O (1:1) som løsemiddel. Natriumaskorbat og kobbersulfat er katalysatorer^[28]. Det var meningen at produktet skulle felle ut, men etter å ha rørt reaksjonen ved romtemperatur over natt, var det ingen utfelling. Reaksjonen ble gjort tre ganger, to med azidet $n=1$ og en med $n=2$, uten at det ble utfelling av produktet. Det ble prøvd å tilsette is i samtlige 3 reaksjoner, uten at det resulterte i utfelling. Det var heller ikke mulig å se omdannelse av utgangstoffene til produkt på TLC.

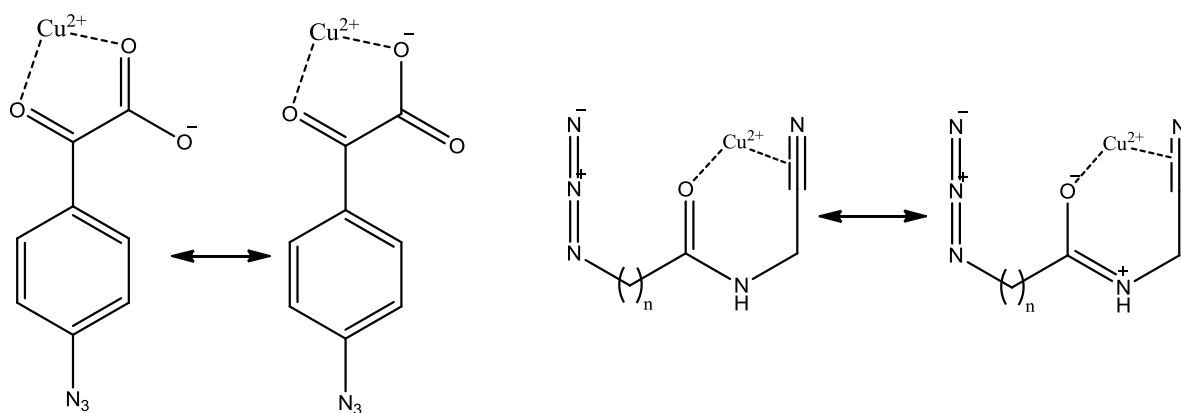
Det ble brukt litt tid på å undersøke i litteraturen om hva som kan gå galt i denne typen reaksjoner. Det ble funnet en artikkel^[29] hvor det beskrives problemer med kobber kompleksing i forbindelse med klikk kjemi. Problemet i dette arbeidet var at kobberet komplekserte med 2-oxo syrer, som førte til at reaksjonen ikke ville gå. Måten de omgikk problemet på var å bruke esteren, og gjøre den om til syre i etterkant av klikkreaksjonen. Dette var utgangspunktet for tanken bak å beskytte salisylsyren som et acetal, og hydrolysere acetalet i etterkant av klikkreaksjonen. Forbindelse **10** ble dermed syntetisert og testet ut i reaksjonen, men dessverre uteble produktet også her.



Figur 2.6: Oversikt over reaksjonene som ikke gikk.

Siden fortsatt ikke reaksjonen gikk, er det naturlig å anta at det er azid-delen som er problematisk. Fokuset på feilsøkingen ble dermed rettet mot denne delen.

I arbeidet det er referert til over, er det foreslått en mulig struktur av kobberkomplekset (fig. 2.7), strukturen er også dokumentert ^[30]. Sett ut fra den strukturen kan man enkelt tenke seg til en tilsvarende, mulig struktur av et kobberkompleks av azidet, hvor kobberet komplekserer med karbonyllen og π elektronene i dobbeltbindingen. Argumentet som taler mot denne teorien er at det blir dannet en syvring. Syvringer er energetisk mindre gunstige å danne enn for eksempel seksringer. Et argument som taler for denne hypotesen er at resonansstrukturen til amidet gir en plan struktur som gjør det lettere for kobber å danne det eventuelle komplekset. Det er også mulig å se for seg et kobberkompleks med azidet og karbonyllen i molekylet $n=1$. Dette komplekset ville i så tilfelle også dannet en 7 ring. Men siden syntesen ikke fungerte med $n=2$ er nok ikke dette forklaringen, siden det da ville ha blitt dannet en eventuell 8 ring som er lite energetisk gunstig.

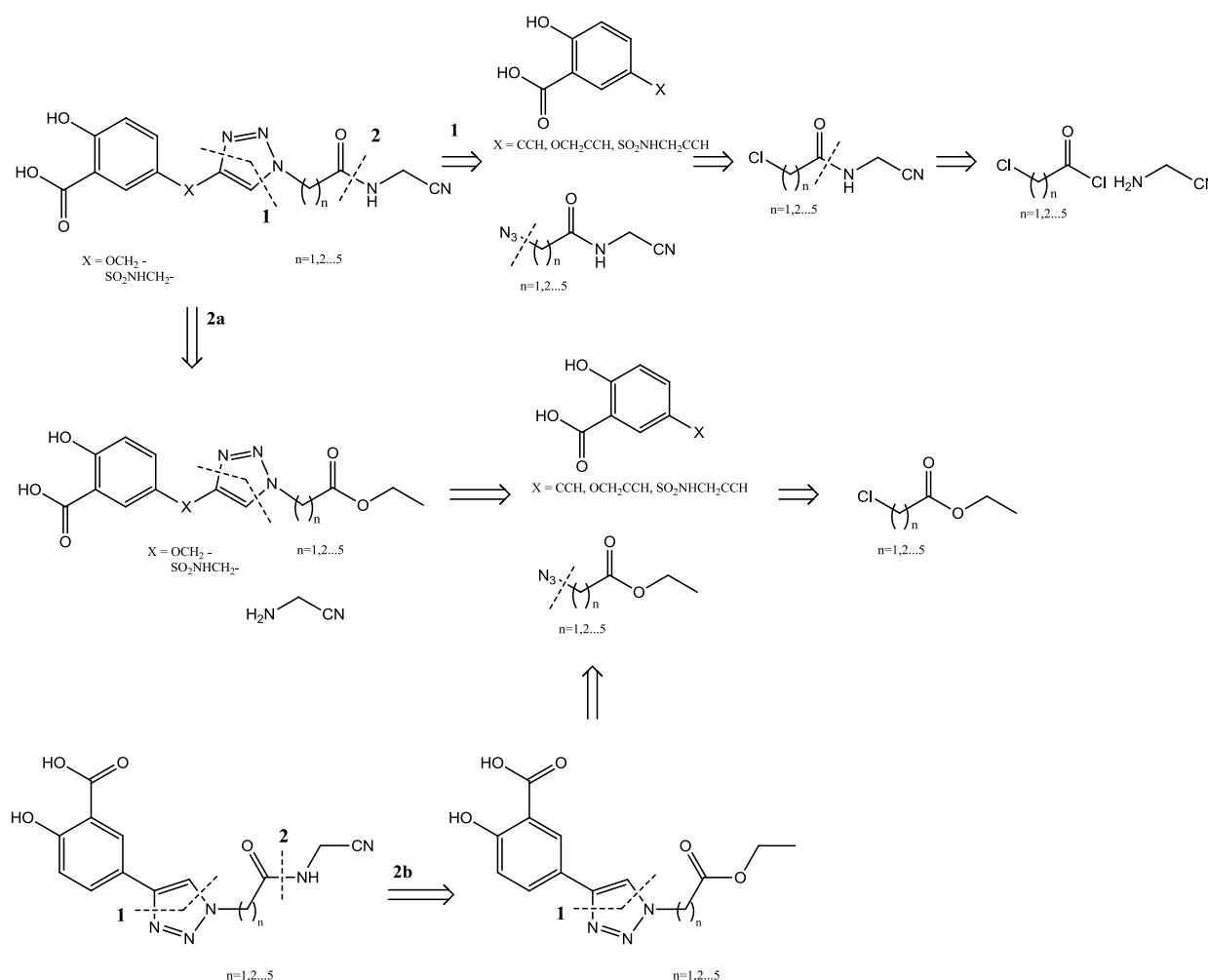


Figur 2.7: Mulig struktur av kobberkomplekset i arbeidet til Xie og Seto ^[29], og tenkt struktur av et kompleks mellom kobberinoer og azidet mitt.

Det er også mulig å se for seg intermolekylære komplekser med kobber og nitrill. Slike kompleks er dokumentert^[31], men det ble ikke funnet rapporter om at intermolekylære kobberkomplekser er et problem i forbindelse med denne type reaksjoner etter omfattende litteratursøk.

2.4 Videre arbeid

Det er tydelig at problemene med sykloaddisjonsreaksjonen er knyttet til nitrillgruppen. For å unngå disse problemene ble det utarbeidet en ny, alternativ retrosyntetisk analyse av targetmolekylet (*fig. 8*). En ny syntesestrategi ble satt opp med tanke på å unngå problemene knyttet til kobberkomplekseringen og klikkreaksjonen.



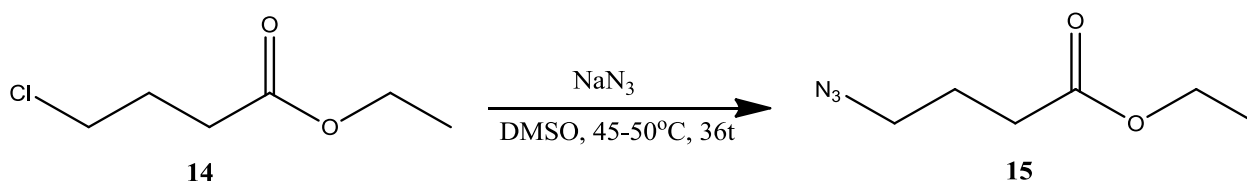
Figur 2.8: Gammel (**1**) og ny (**2ab**) retrosyntetisk analyse av targetmolekylet.

Ulempene med dette alternativet er at det innebærer litt mer arbeid enn den forrige. Grunnen til det er at man må gjøre $3 \times 5 = 15$ amidkoblinger i 1/3 skala i forhold til det andre alternativet, hvor det kun er nødvendig med 5 amidkoblinger. Samtidig må syrekloridene

lages fra esteren. Det vil muligens vært tidsbesparende å bruke et peptidkoblingsreagens, men det koster penger (HATU 335 \$ for 100g^[32]). En annen ulempe med å gjøre det på denne måten er at det sannsynligvis vil være nødvendig å ha beskyttet salicylsyregruppen som et acetal, fordi amidannelsen er uspesifikk og kan like gjerne reagere med en syre eller en ester andre steder på molekylet.

Fordelene med å gjøre syntesen på denne måten er at problemene rundt sykloaddisjonsreaksjonen og den eventuelle kobberkomplekseringen med nitrillgruppen uteblir. Det er også å håpe at et større molekyl med UV-absorbans, blir lettere å jobbe med i opparbeidelsen av amid-dannelsen.

Det er gjort to synteser med utgangspunkt i denne strategien. Først ble det laget et azid (*skjema 2.11*). Deretter ble azidet reagert med et alkyn (forbindelse **16**) som ga et rent triazolprodukt (*skjema 2.12*).

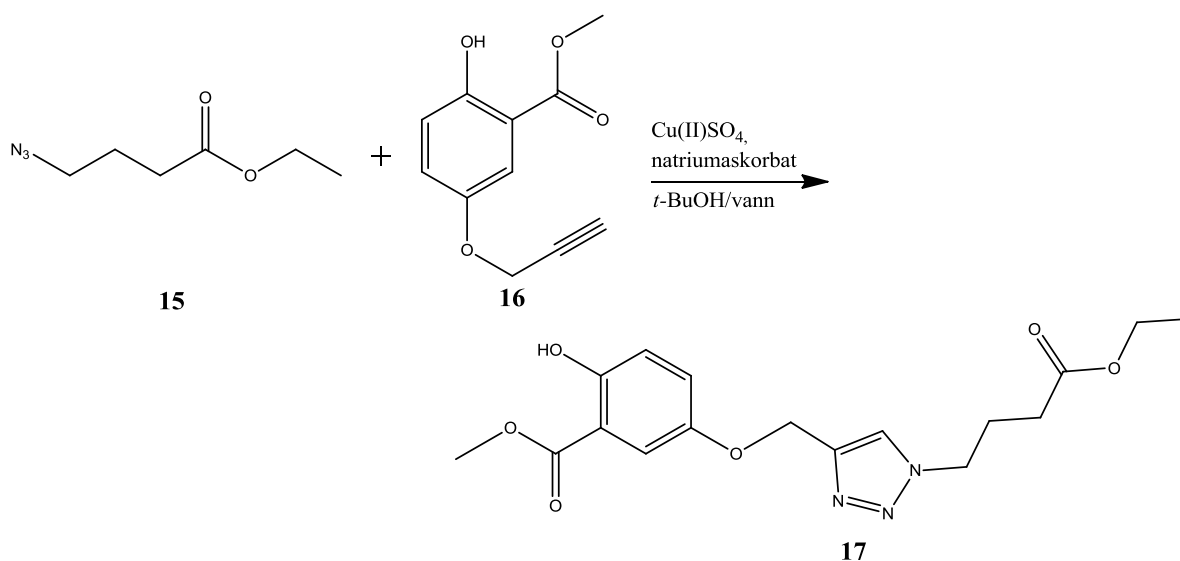


Skjema 2.11: Syntese av 4-azidobutanoat

Syntesen av azidet ble gjort med en liten variant fra tidligere. I stede for å bruke vann og etanol (1:1) som løsemiddel ble det brukt DMSO. Reaksjonen ble stående ved 45-50°C i 36 timer. Dette resulterte i et utbytte på 96%, men desverre viser NMR-spektrene at produktet inneholder rester av DMSO. Ellers viser ¹H NMR spekteret en triplett med kjemiskskiftverdi på 1.18 ppm som integrerer for 3 protoner og *J*=7.14 Hz. Signalet stammer fra CH₃-gruppen på metylesteren. Pentetten som kommer med kjemiskskiftverdi på 1.83 ppm, *J*=6.96 Hz og 7.03 Hz og som integrerer for to protoner, stammer fra protonene på CH₂-gruppe nummer to sett fra azidet. Disse protonene har 4 protoner på nabokarbonene og skal derfor i følge *n*+1 reglen komme som en pentett. Den neste tripletten, med kjemiskskiftverdi på 2.32 ppm, *J*=7.24 Hz integrerer for 2 protoner og stammer sannsynligvis fra protonene i CH₂-gruppen som sitter nærmest azidet. Den andre tripletten som integrerer for 2 protoner, og har kjemiskskiftverdi på 3.27 ppm og *J*=6.69 Hz, stammer fra protonene i CH₂-gruppen som sitter som nummer tre fra azidet. Det siste signalet i spekteret er en kvartett ved 4.06 ppm, integrerer for 2 protoner og har koblingskonstant på 7.14 Hz. Signalet stammer fra CH₂-gruppen i etylesteren. Den store singletten ved 2.54 ppm er rester av DMSO. Siden det er lite forandring mellom utgangstoff

og produkt er det vanskelig å si om reaksjonen har funnet sted ut fra et spekter. Det ble derfor tatt opp et ^1H NMR-spekter der utgangstoff og produkt ble blandet, slik at man kunne se at tre av signalene var forskjøvet mot en litt høyere ppm-verdi. Toppene som var forskjøvet var de tre toppene som representerer protonene som er nærmest azidet.

^{13}C NMR-spekter viser 6 signaler som representerer de seks karbonatomene i molekylet. Det er et signal som skiller seg ved 172.59 ppm. Signalet representerer karbonet i karbonyllen. Resten av signalene kommer forholdsvis tett med lave kjemiskskiftverdier. Det er vanskelig å avgjøre hvilket av signalene som representerer hvilket karbon.



Skjema 2.12: Syntese av 5-((1-(4-((cyanometyl)amino)-4-oksobutyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)-2-hydroksybenzosyre

Det neste trinnet i den nye strategien går ut på å sette sammen et alkyn og et azid til en triazol ved hjelp av kobberkatalyse. Produktet felte ut når det ble tilsatt is, og ble filtrert fra, og renset ved hjelp av kromatografi (heksan:EtOAc 1:1, $R_f=0,4$). NMR spektrene viste at reaksjonen hadde funnet sted. De fleste signalene i spekterne er kjent fra tidligere, siden molekylet er satt sammen av kjente byggesteiner (*forbindelse 15 og 16*). Endringene i spekterne sammenlignet med de to byggesteinene er at tripletten, ved 2.50 ppm, $J=2.4$ Hz, for protonet i alkynet (*forbindelse 16*) er borte. Signalet er erstattet med en bred siglett ved 7.63 ppm som representerer det ene protonet 1,2,3-triazolringen. I tillegg er dubletten, ved 4,64 ppm, $J=2.4$ Hz, blitt til en singlett og forskjøvet til 5.12 ppm. Signalene fra forbindelse **16** kobler med hverandre i en 4 bindings kobling eller en propargylisk kobling, $J=2.4$ Hz. Mens signalene i forbindelse **17** kommer som singletter og kobler følgelig ikke med hverandre, selv om det også her er 4 bindinger mellom protonene. Fenomenet er diagnostisk for at denne reaksjonen

har funnet sted. Som nevnt over har signalene for protonene som sitter nærmest 1,2,3-triazolen forkjøvet seg mot høyere kjemiskskiftverdi. Dette gjør seg også gjeldene for den andre delen av molekylet, der tripletten som representerer protonene som er nærmest triazolen er forkjøvet fra 3.27 ppm i forbindelse **15** til 4.42 ppm i forbindelse **17**. Pentetten som representerer protonene på den midterste CH₂-gruppen er forkjøvet litt mindre, fra 1.83 ppm til 2.22 ppm. CH₂-gruppen som sitter nærmest esteren er ikke forkjøvet og kommer med samme kjemiskskiftverdi i begge spekterne. Det karakteristiske i ¹³C NMR spekteret er to topper som representerer de to karbonatomene i triazolringen. Det er vanskelig å avgjøre hvilket signal som representerer de to karbonene, men signalene antas å komme mellom 120 ppm til 150 ppm.

3 Konklusjon og videre studier

Det ble gjort en retrosyntetisk analyse av molkeylene som var målet for oppgaven. Analysen er presentert i innledningen. Ut fra denne analysen ble det satt opp en strategi for fremgangsmåte og syntese av målmolekylene.

3.1 Salisylsyredelen

Strategien som ble satt opp på forhånd viste seg å gi produkt. Som beskrevet ble det syntetisert tre ulike produkter. I tillegg til at det ble tatt kontakt med to ulike leverandører som kunne skaffe et fjerde molekyl, 2-hydroksy-5-(*N*-(prop-2-yn-1-yl)sulfamoyl)benzosyre.

3.2 Azidene

Strategien som var satt opp for denne delen av molekylet, viste seg å gi flere problemer. Det ble syntetisert to azider, $n=1$ og $n=2$, ved hjelp en SN_2 reaksjon. Det ble også prøvd å syntetisere ytterligere to azider på denne måten uten positivt resultat. Siden de to azidene som ble syntetisert ikke ville reagere i sykloaddisjonsreaksjonen med alkynene, må det videre arbeidet gå ut på å vurdere andre syntesestrategier.

3.3 Cu(I)-katalysert sykloaddisjonsreaksjon

Reaksjonen ble forsøkt totalt 6 ganger med ulike substrat, produktene uteble.

3.4 Videre arbeid

Som sagt tidligere i oppgaven er det satt opp en ny strategi for syntesen av målmolekylene. De to første trinnene i denne strategien er allerede prøvd ut. Amidkoblingen, som er det siste trinnet i syntesen, bør undersøkes nærmere. Planen er å ta opp igjen metodene som så vidt ble undersøkt tidligere i arbeidet, som gikk ut på å først lage syreklorider fra esterene for så å lage amider. For at denne tilnærmingen skal være vellykket er det sannsynligvis nødvendig å arbeide med acetal-versjonene av molekylet og ikke esteren. Grunnen til det er at dannelsen av syrekloridene og amidene antagelig ikke er regioselektiv, og kommer til å skje begge steder med mindre det ene stedet er beskyttet.

4 Eksperimentelt

4.1 Materialer

Alle reagenser, reaktanter og løsemidler ble kjøpt fra Sigma-Aldrich og brukt uten videre rensing, med mindre annet er beskrevet.

4.2 Apparater

Synteseproduktene ble analysert ved hjelp av TLC, ^1H NMR, ^{13}C NMR og IR.

4.2.1 Tynnsjiktchromatografi (TLC)

TLC ble utført med TLC-aluminiumsplater med silikagel 60 F₂₅₄ (Merk). Sonene ble gjort synlige med UV-lys, 256nm.

4.2.2 Kjernemagnetisk ressonanspektroskopi (NMR)

Det ble tatt ^1H NMR og ^{13}C NMR av alle mellomprodukter og sluttprodukter, med mindre annet er beskrevet. ^1H NMR og ^{13}C NMR ble tatt opp på Bruker DPX300 instrument med en automatisk prøveholder. Prøvene ble løst i CDCl_3 eller $\text{DMSO}-d_6$ og analysert ved romtemperatur. Spektrene ble bearbeidet i Mestrenova. Koblingskonstantene (J) blir rapportert i hertz (Hz), og kjemiskshiftverdi blir rapportert i parts per million (δ) i forhold til løsemiddelet.

Kjemisk skiftverdi for løsemidlene:

CDCl_3 : ^1H NMR δ 7.24 (s)

^{13}C NMR δ 77.23 (t)

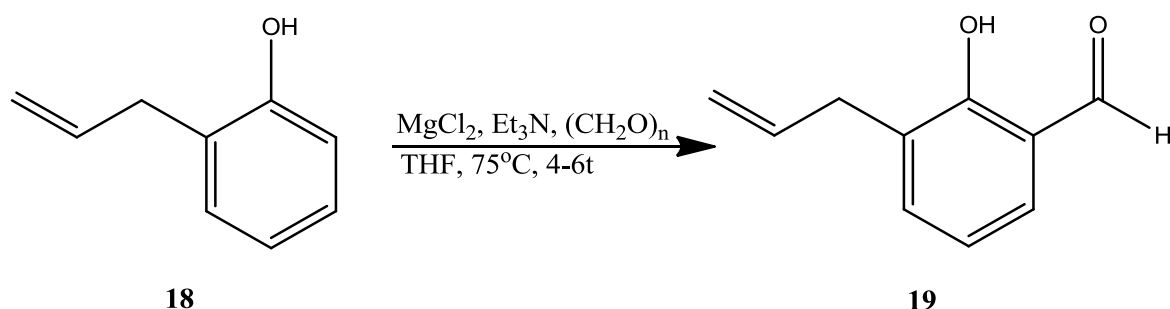
$\text{DMSO}-d_6$ ^1H NMR δ 2.50 (p)

^{13}C NMR δ 39.51 (h)

4.2.3 Infrarødspektroskopi (IR)

IR-spekter ble tatt opp for mellomproduktene og sluttproduktene som inneholder enten trippelbindinger eller azider. Dessverre ble det ikke tatt opp IR-spekter for alle de aktuelle mellomproduktene, på grunn av apparatproblemer. Spektrene ble tatt opp på en Perkin Elmer Spektrum BX serier FT-IR spektrometer. Alle prøvene ble løst i CH_2Cl_2 og analysert ved romtemperatur. IR-spektrene ble bearbeidet i Spectrum (software).

4.3 Syntese av 3-allyl-2-hydroksybenzaldehyd



Referanse

N. U. Hofsløkken og L. Skattebøl, *Acta Chem. Scand.* **1999**, 53, 258-262.^[33]

Fremgangsmåte

MgCl₂ (952 mg, 10 mmol, 2 ekv.) og (CH₂O)_n (451 mg, 15 mmol, 3 ekv.) ble løst i tørr THF (25 ml) i en tørr rundkolbe, trietylamin (1,4 ml, 10 mmol, 2 ekv.) ble tilsatt. Løsningen ble rørt i 10 min. ved romtemperatur. 2-Allyl-fenol **18** (0,7 ml, 5 mmol, 1 ekv.) ble tilsatt ved hjelp av sprøyte og kanyle gjennom et septum. Reaksjonsblandingen ble varmet opp til 75°C under argon atmosfære. Etter ca.5 timer ble utgangstoffet ikke observert på TLC og reaksjonen ble avsluttet. Varmekilden ble fjernet, og reaksjonsblandingen avkjølt til romtemperatur. Ved romtemperatur ble Et₂O (20 ml) tilsatt og overført til en skilletrakt. Det ble vasket med først 1M HCl (3x20 ml) og deretter vann (3x20 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄ og løsemiddelet ble dampet inn. Produktet ble ytterligere rensset ved hjelp av flashkromatografi (EtOAc:Heksan 1:9, R_f 0,58)

Kommentarer til forsøket

Forsøket ble gjort som en ”bli kjent med organisk-syntese” øvelse. Sluttproduktet ble ikke videre brukt under arbeidet med masteroppgaven.

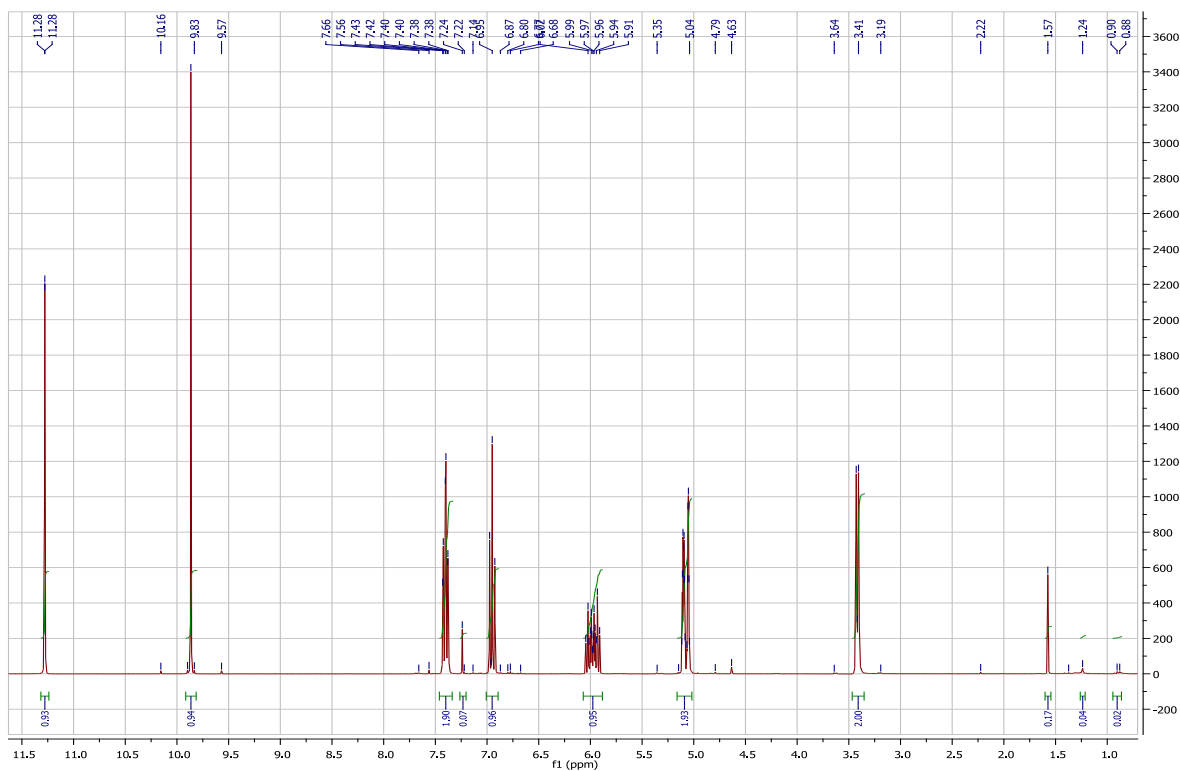
Data

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 3.41 (d, *J*=3.1 Hz, 2H), 5.04 (m, 2H), 5.91-6.04 (m, 1H), 6.95 (t, *J*=7.57 Hz, 1H), 7.40 (m, 2H), 9.83 (s, 1H), 11.28 (d, *J*=0.5 Hz, 1H)

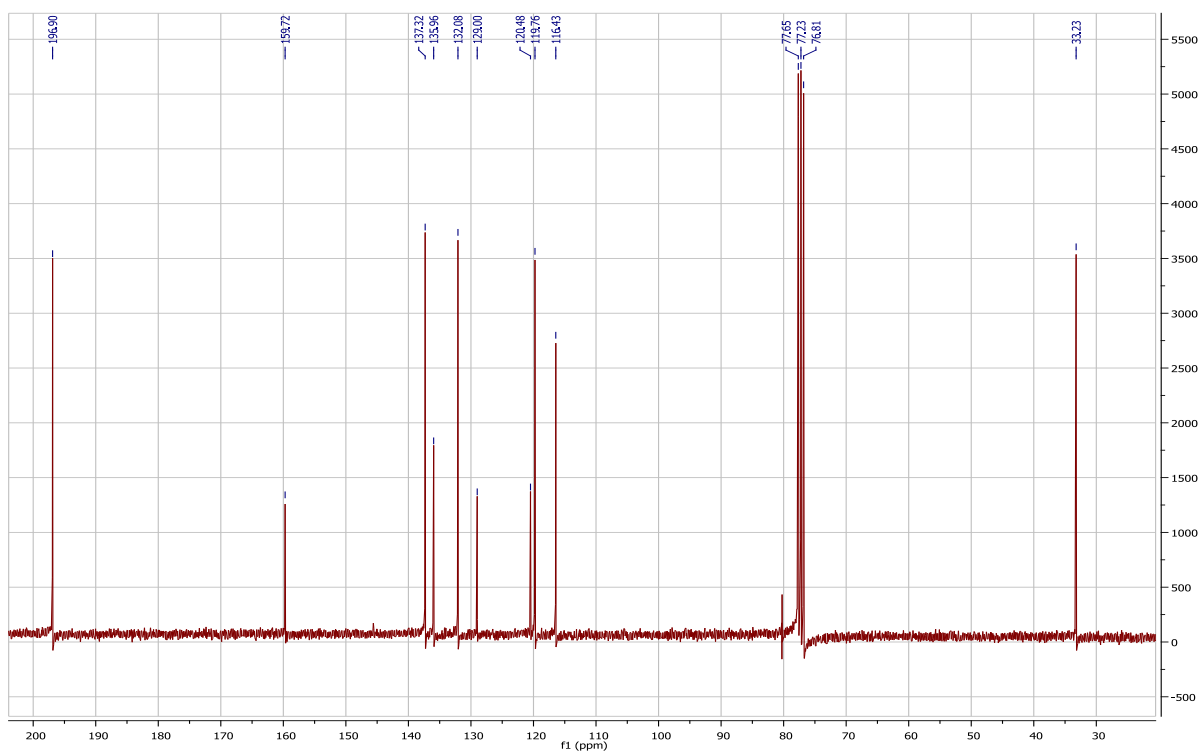
¹³C NMR (75MHz, CDCl₃) δ 33.23, 116.43, 119.43, 119.76, 120.48, 129.00, 135.96, 137.32, 159.72, 196.90

Produkt: lys gul olje

Utbytte: 81 %

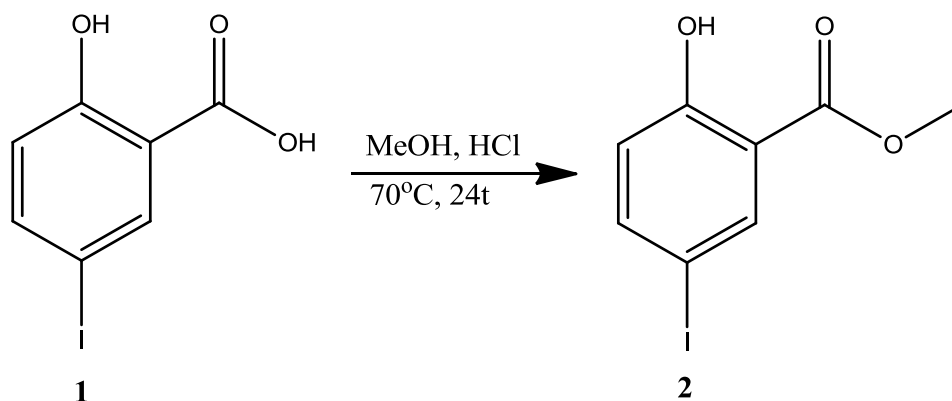


Spekter 4.1: ¹H NMR-spekter for forbindelse 19



Spekter 4.2: ¹³C NMR-spekter for forbindelse 19

4.4 Syntese av metyl 2-hydroksy-5-Jodobenzoat



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.797-799.^[34]

Fremgangsmåte

Forbindelse **1** (5,24 g, 20 mmol) ble veid opp direkte i rundkolben. Metanol (140 ml) og saltsyre (5 dråper) ble tilsatt. Reaksjonen ble refluksert i ca. 24 timer. Reaksjonen ble kjølt ned til romtemperatur. Metanolen ble dampet inn og tørrstoffet løst i EtOAc (50 ml) og overført til en skilletrakt. Blandingen ble vasket med mettet NaHCO₃-løsning (4x30 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄ og dampet inn.

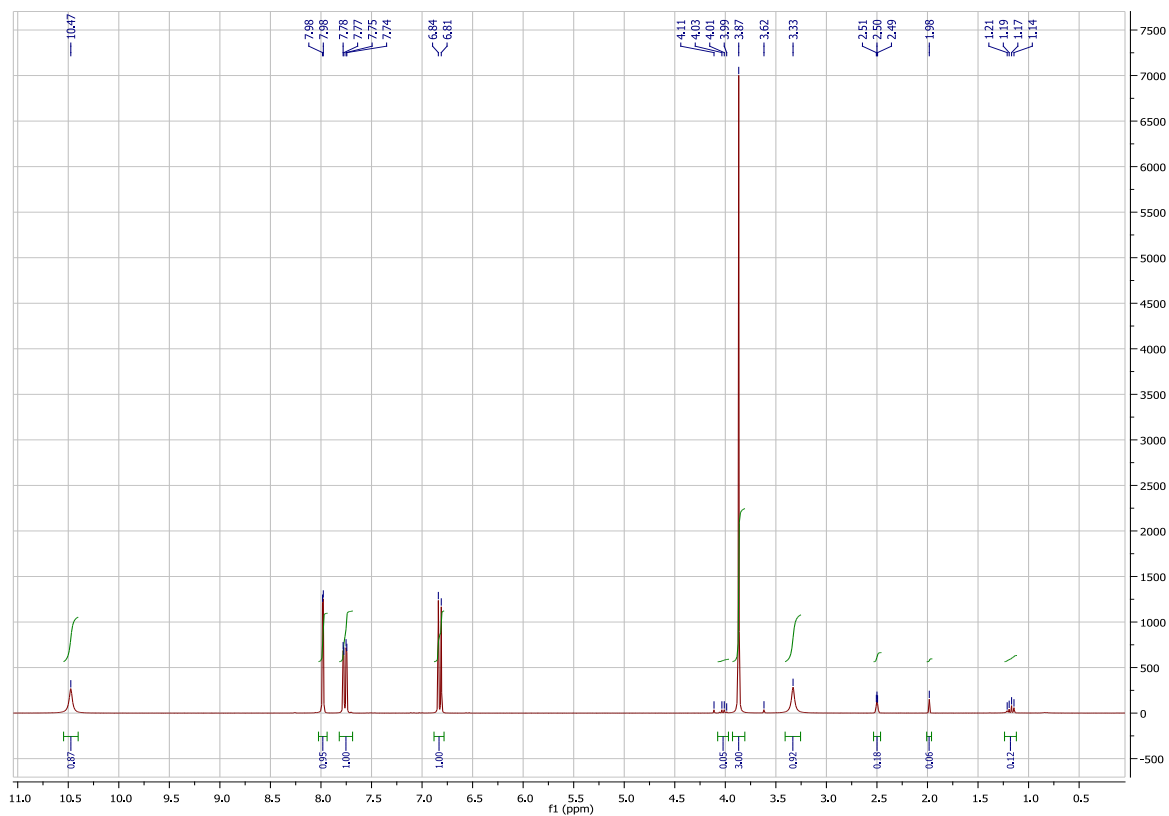
Data

¹H NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.85 (s, 3H), 6.82 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J*=2.3 Hz *J*=8.7 Hz, 1H), 7.98 (d, *J*=2.3 Hz, 1H), 10.47 (s, 1H)

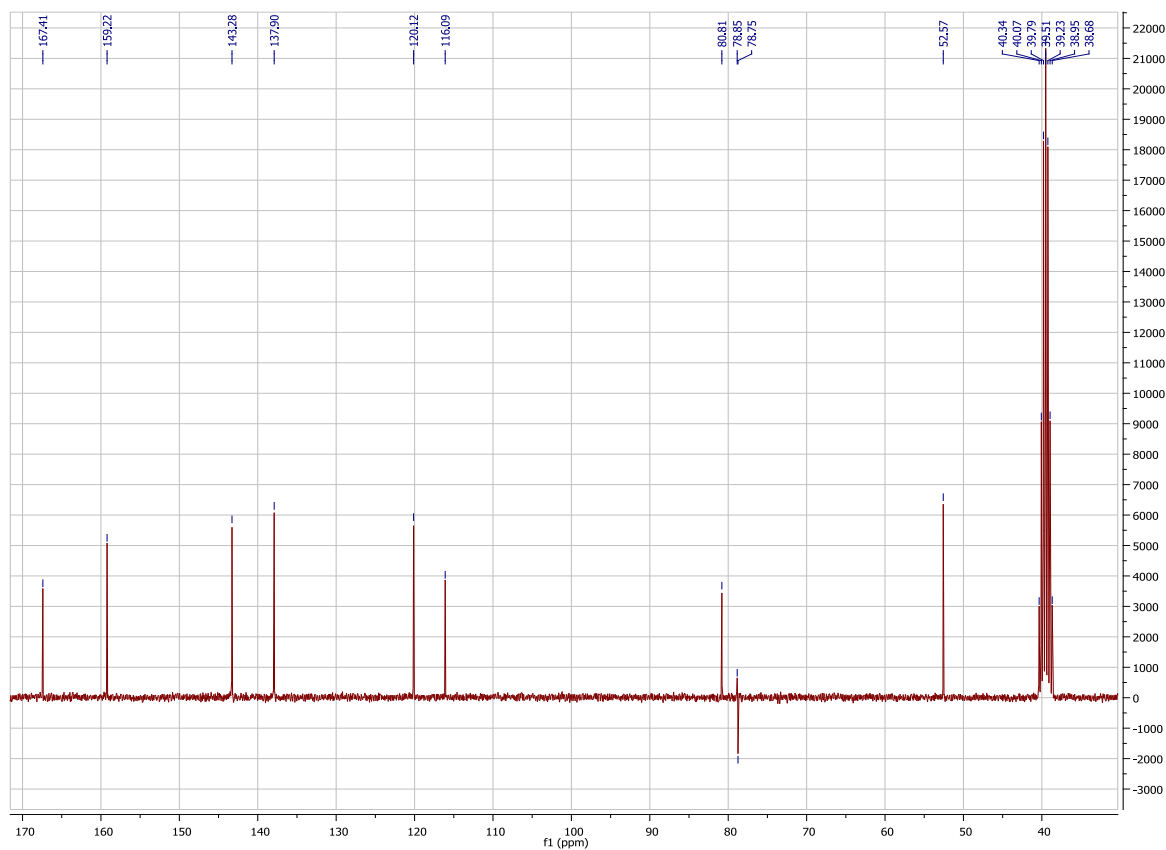
¹³C NMR (75MHz, DMSO-*d*₆) δ 52.57, 80.81, 116.09, 120.12, 137.90, 143.28, 159.22, 167.41

Produkt: hvitt pulver, smeltepunkt 77 - 79°C

Utbytte: 50 %

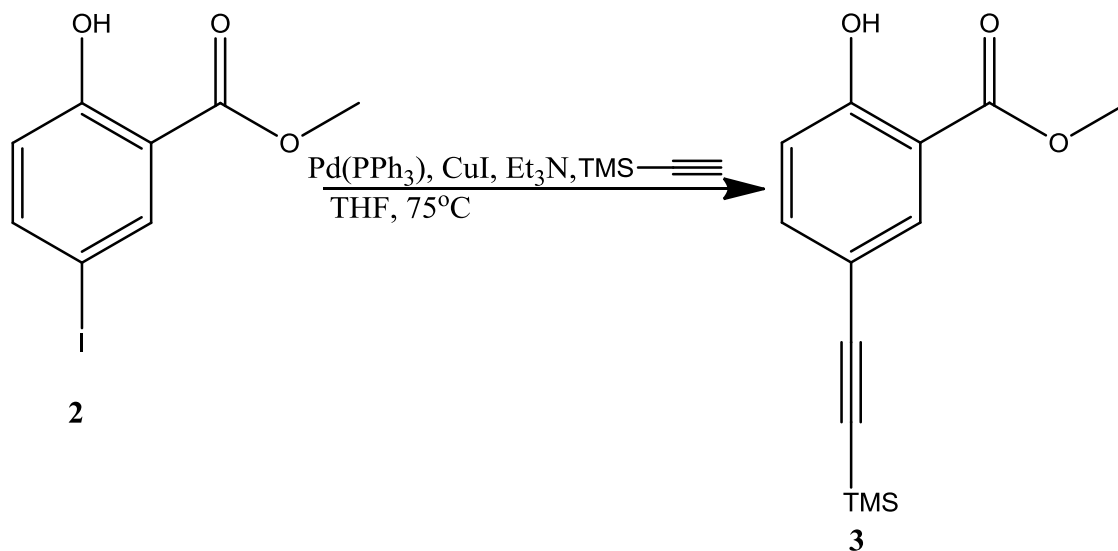


Spekter 4.3: ^1H NMR-spekter av forbindelse 2



Spekter 4.4: ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 2

4.5 Syntese av metyl 2-hydroksy-5-((trimetylsilyl)etynyl)benzoat



Referanse

K. Sonogashira, Y. Tohda og N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 4467-4470.^[14]

Fremgangsmåte

Forbindelse **2** (1,46 g, 5 mmol, 1 ekviv.) ble tilsatt $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (5 mg), CuI (10 mg) og Et_3N (3 ml) i en tørr rundkolbe. Stoffene ble tilsatt tørr THF (50ml), og blandingen ble varmet opp under omrøring til 75°C . Etter 10 min ble etynyltrimetylsilan (0,8 ml, 1,1 ekviv.) tilsatt.

Etter 4 timer ble reaksjonen sjekket på TLC. Varmekilden ble fjernet og de tørre betingelsene opphevet. Reaksjonsblandingen ble kjølt ned til romtemperatur. Blandingen ble tilsatt EtOAc (50 ml) og overført til skilletrakt hvor den ble vasket med mettet NaCl -løsning (brine) (5x30 ml). Organisk fase ble tørket over MgSO_4 og dampet inn. Ytterligere opprensing ble gjort ved hjelp av flashkromatografi(heksan:aceton 10:1).

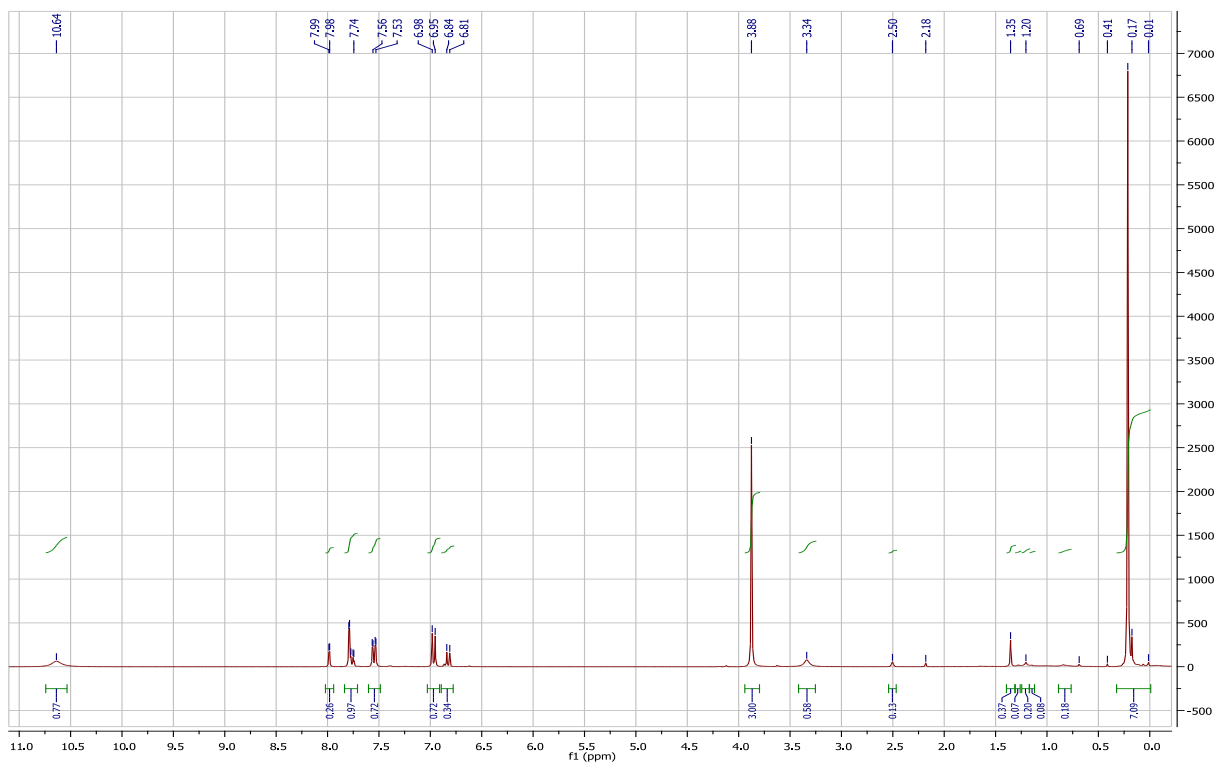
Data

$^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 0.17 (s, 9H), 3.88 (s, 3H), 6.90 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J=2.2$ Hz, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 10.64 (s, 1H)

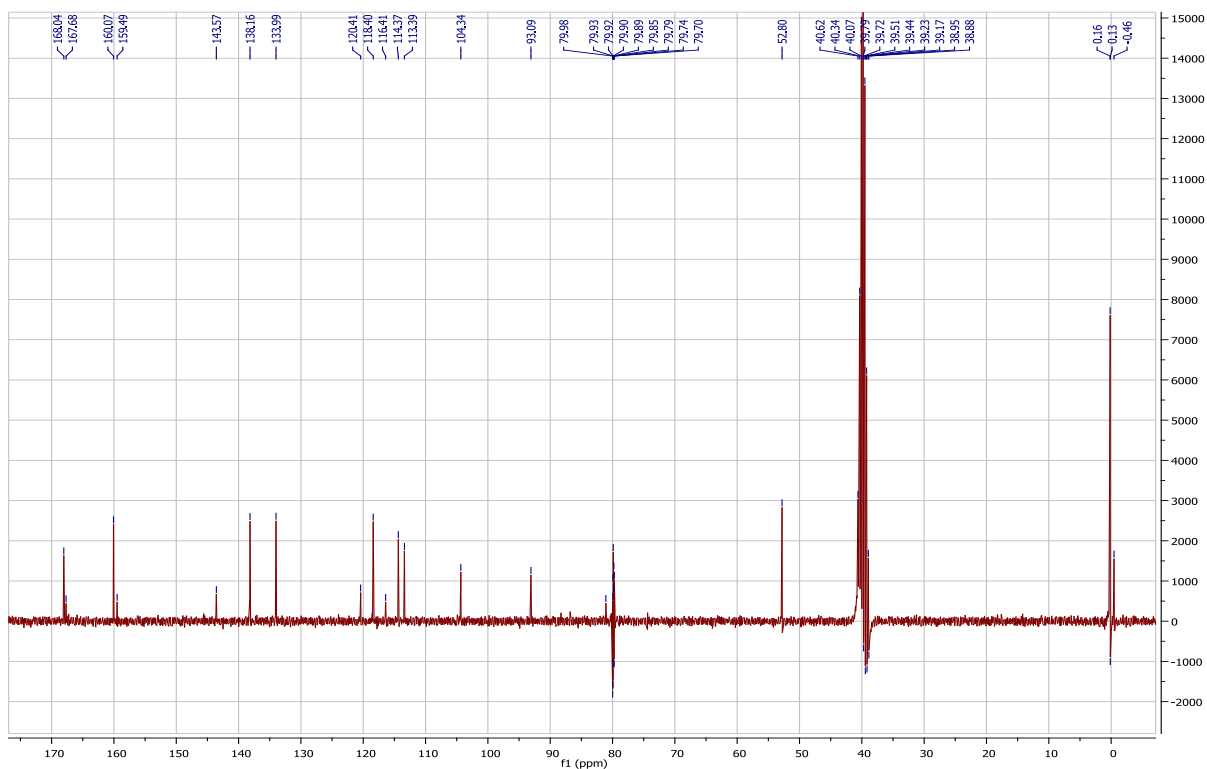
$^{13}\text{C NMR}$ (75MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 0.13, 52.80, 93.09, 104.34, 113.39, 116.41, 118.40, 133.90, 138.16, 160.07, 168.04

Produkt: gulbrun olje

Utbytte: 95 %

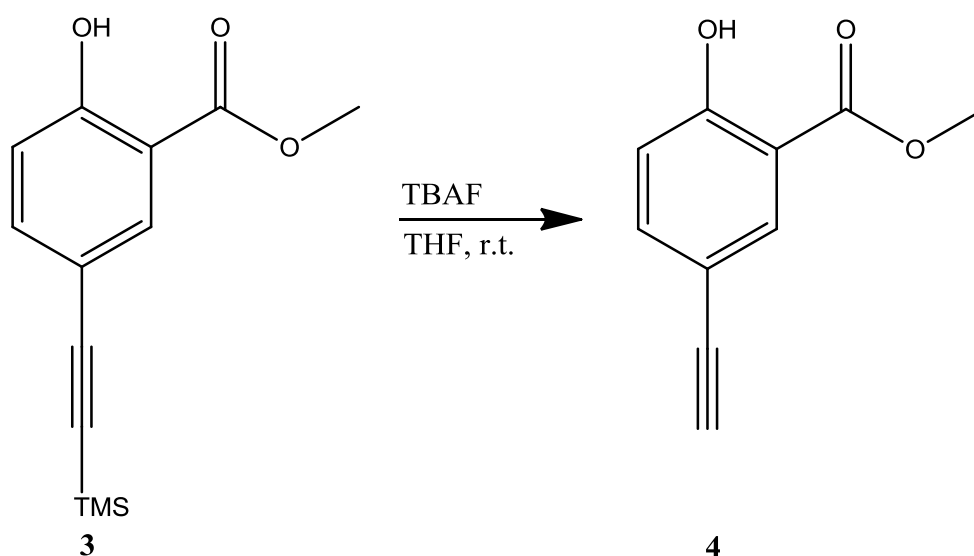


Spekter 4.5: ^1H NMR spekter av forbindelse 3



Spekter 4.6: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 3

4.6 Syntese av metyl 5-etynyl-2-hydroksybenzoat



Referanse

K. Sonogashira, Y. Tohda og N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 4467-4470.^[14]

Fremgangsmåte

Forbindelse **3** (1,24 g, 5 mmol, 1 ekviv.) ble løst i tørr THF (30 ml). *Tetra*-butylamoniumfluorid (TBAF) (5,5 ml, 5,5 mmol, 1,1 ekviv.) ble tilsatt dråpevis over 5 minutter. Reaksjonen ble gjort under tørre betingelser. Etter en time ble reaksjonen undersøkt på TLC.

EtOAc (40ml) ble tilsatt, blandingen ble overført til en skilletrakt og vasket med mettet NaCl-løsning (5x30ml). Organisk fase ble tørket over MgSO₄ og dampet inn på rotavapor.

Forbindelsen ble ytterligere rensset ved flashkromatografi (heksan:aceton 19:1)

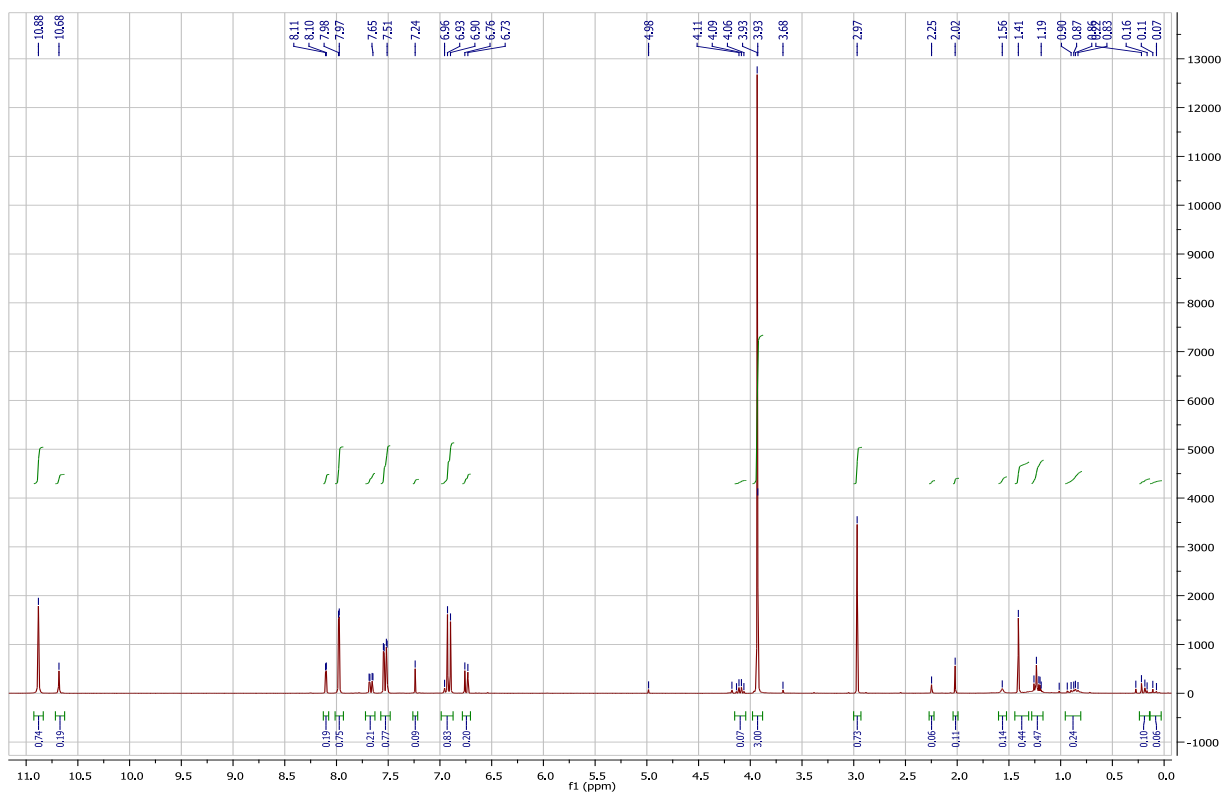
Data

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 2.97 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 6.93 (d, *J*=8.65 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J*=2.2 Hz *J*=8.6 Hz, 1H), 7.98 (d, *J*=2.2 Hz, 1H), 10.88 (s, 1H)

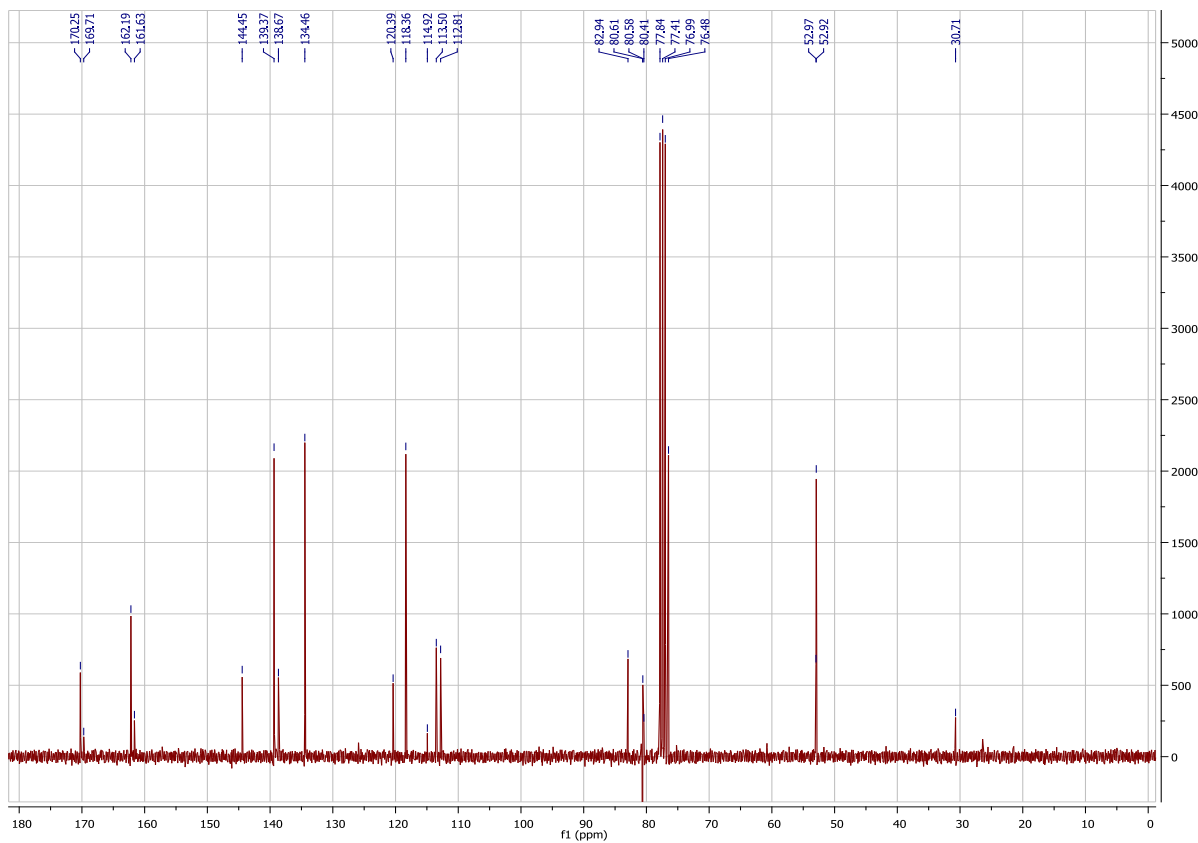
¹³C NMR (75MHz, CDCl₃) δ 52.95, 80.41, 82.94, 112.91, 113.50, 118.36, 134.46, 139.37, 162.19, 170.25

Produkt: Røde krystaller.

Utbytte: 76 %

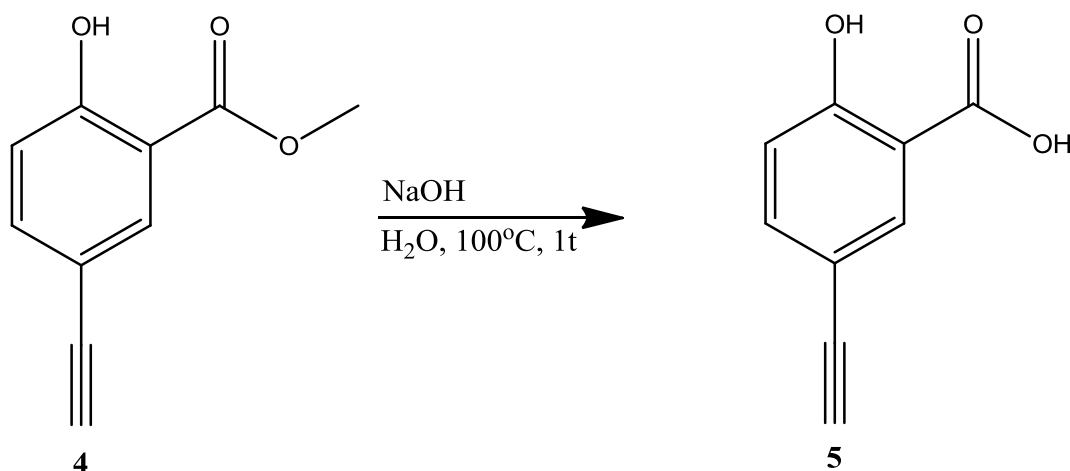


Spekter 4.7: ¹H NMR spekter av forbindelse 4.



Spekter 4.8: ¹³C NMR spekter av forbindelse 4.

4.7 Syntese av 5-etynyl-2-hydroksybenzosyre



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.800-801.^[35]

Fremgangsmåte

Forbindelse **4** (615 mg) ble løst i vann (50 ml), NaOH (150 mg) ble tilsatt. Etter å ha refluksert 1 time ble reaksjonen undersøkt på TLC. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur. EtOAc (50 ml) ble tilsatt og blandingen ble overført til en skilletrakt. Det ble ytterligere vasket med EtOAc (3x30 ml). Vannfasen ble gjort sur med 5M HCl og stoffet ble ekstrahert over i organisk fase med EtOAc (3x30 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄ og dampet inn. Sluttproduktet ble ytterligere rensset ved hjelp av flashkromatografi (EtOAc:heksan:eddiksyre 8:4:1%).

Data

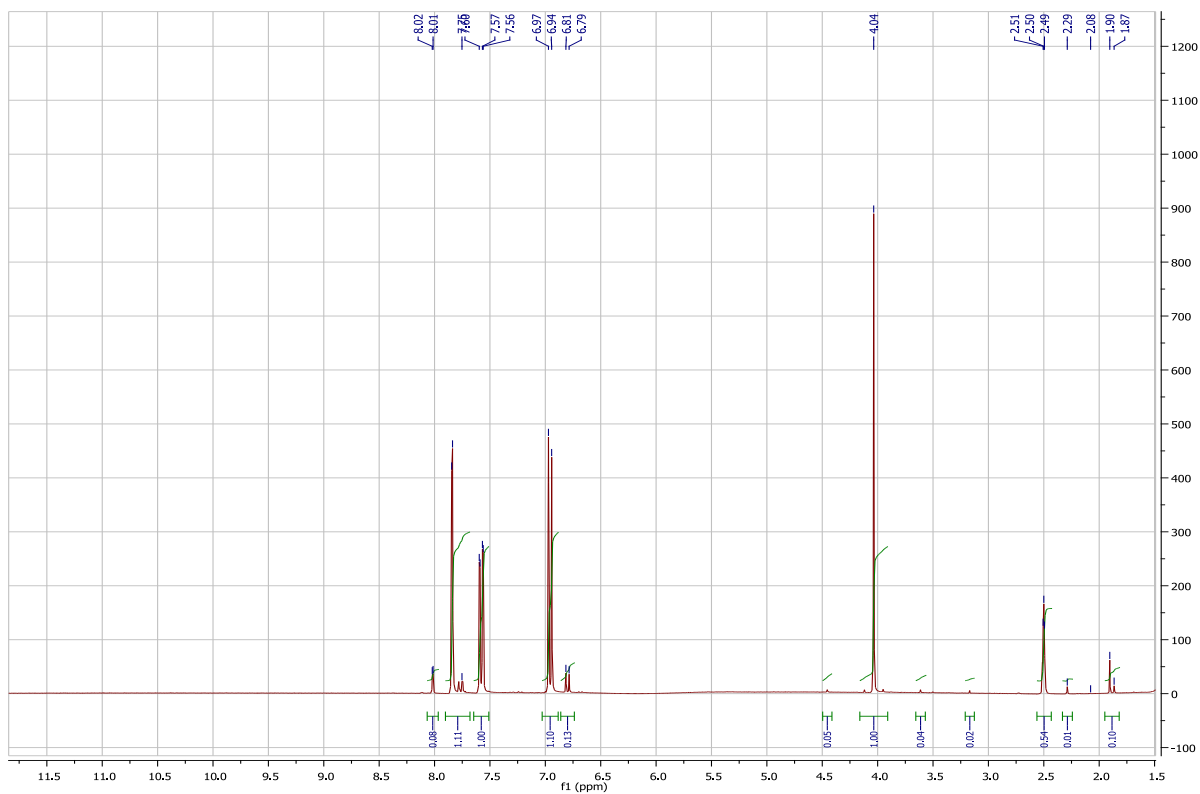
IR (tynn film): ν_{\max} 3055 cm⁻¹, 2987 cm⁻¹, 2306 cm⁻¹, 1682cm⁻¹

¹H NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ 4.04 (s, 3H), 6.96 (d, *J*=8.59 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J*=2.21 Hz *J*=8.58 Hz, 1H), 7.84 (d, *J*=2.18, 1H)

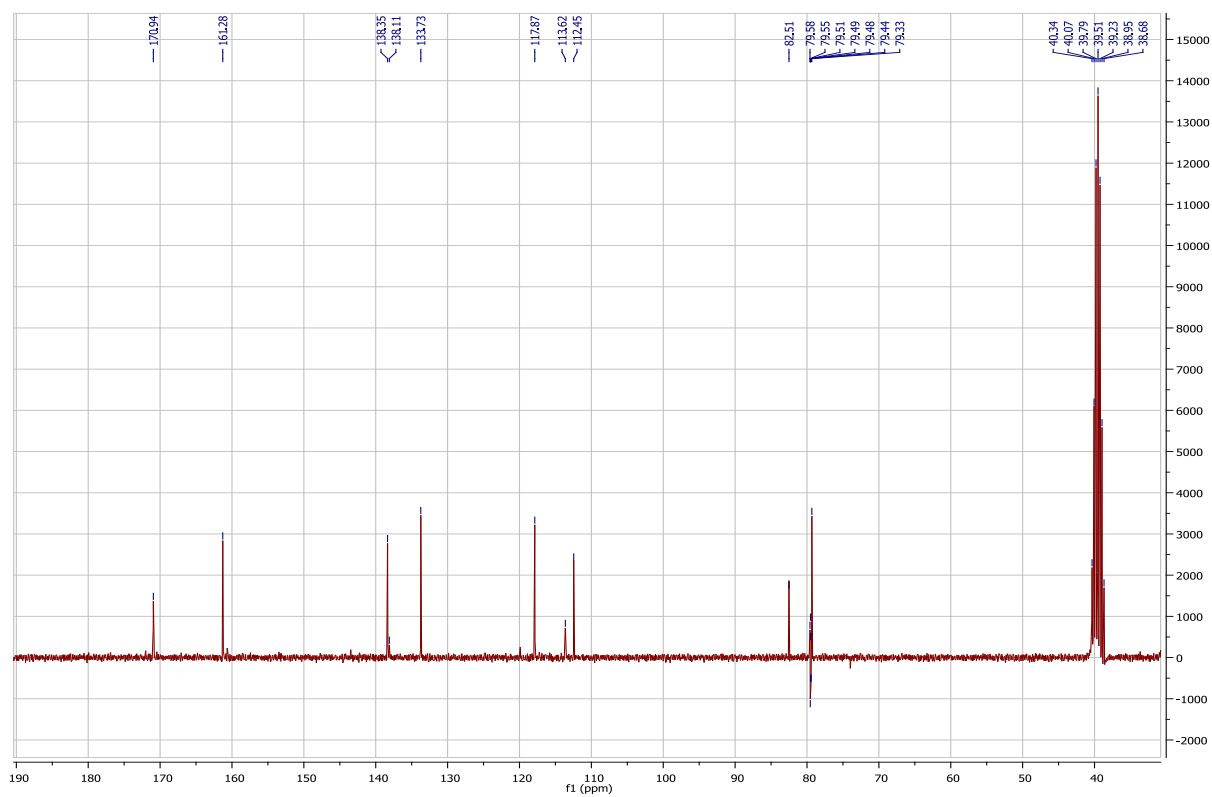
¹³C NMR (75MHz, DMSO-*d*₆) δ 80.25, 83.34, 113.33, 114.41, 118.74, 134.57, 139.24, 162.06, 171.75

Produkt: Rødt pulver/krystaller.

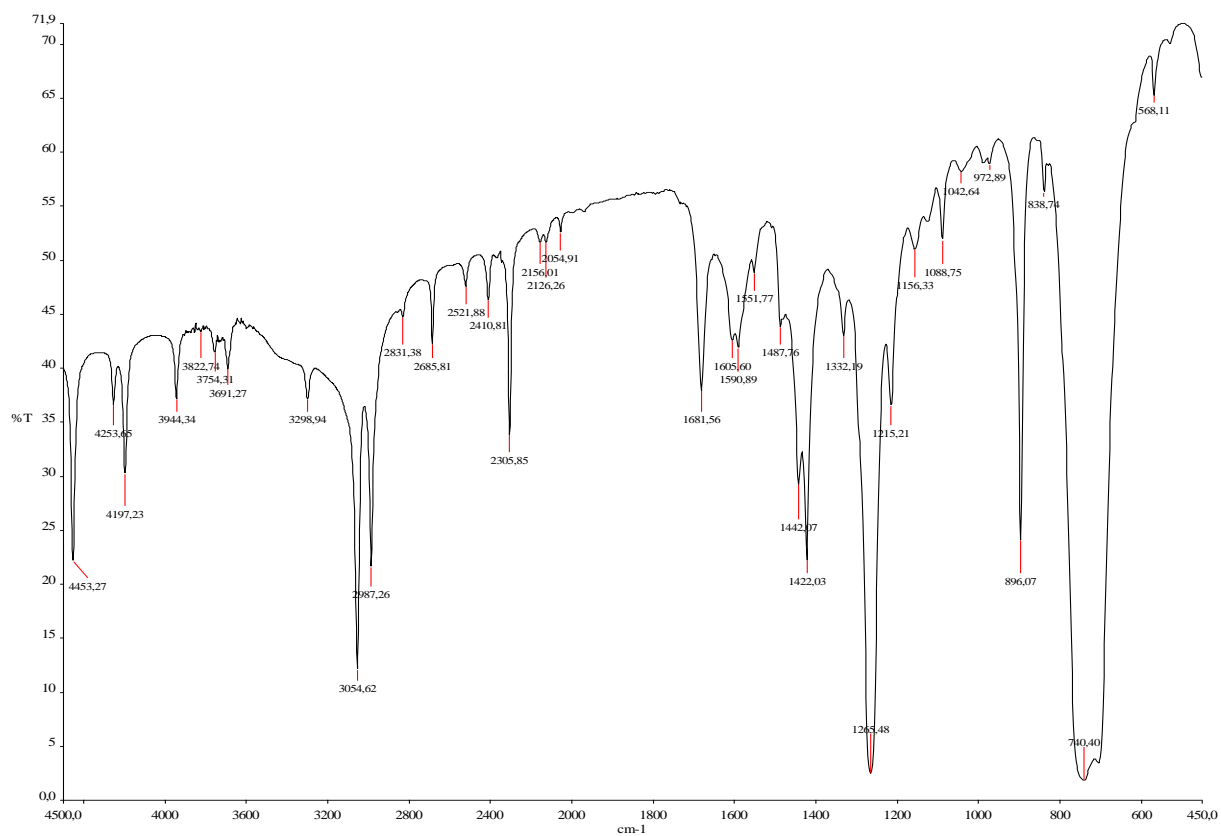
Utbytte: 87 %



Spekter 4.10: ^1H NMR spekter av forbindelse 4.

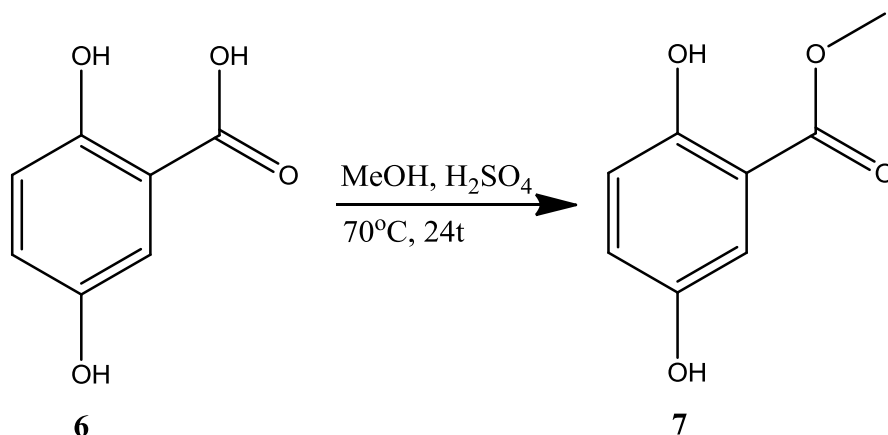


Spekter 4.11: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 4.



Spekter 4.12: IR-spekter av forbindelse 4.

4.8 Syntese av metyl 2,5-dihydroksybenzoat



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.797-799.^[34]

Fremgangsmåte

Forbindelse **6** (2,5-dihydroksybenzosyre) (771 mg, 5 mmol) ble løst i metanol (50 ml). Konsentrert svovelsyre (5 dråper) ble tilsatt. Blandingen ble refluksert i ca 24 timer. Renheten ble undersøkt på TLC (6:4 heksan:EtOAc). Metanolen ble fjernet ved inndamping. Tørrstoffet ble løst i EtOAc (40 ml) og vasket med mettet NaHCO₃-løsning (2x20 ml), vann (1x20 ml) og brine (1x20 ml). Organisk fase ble tørket over MgSO₄, og dampet inn.

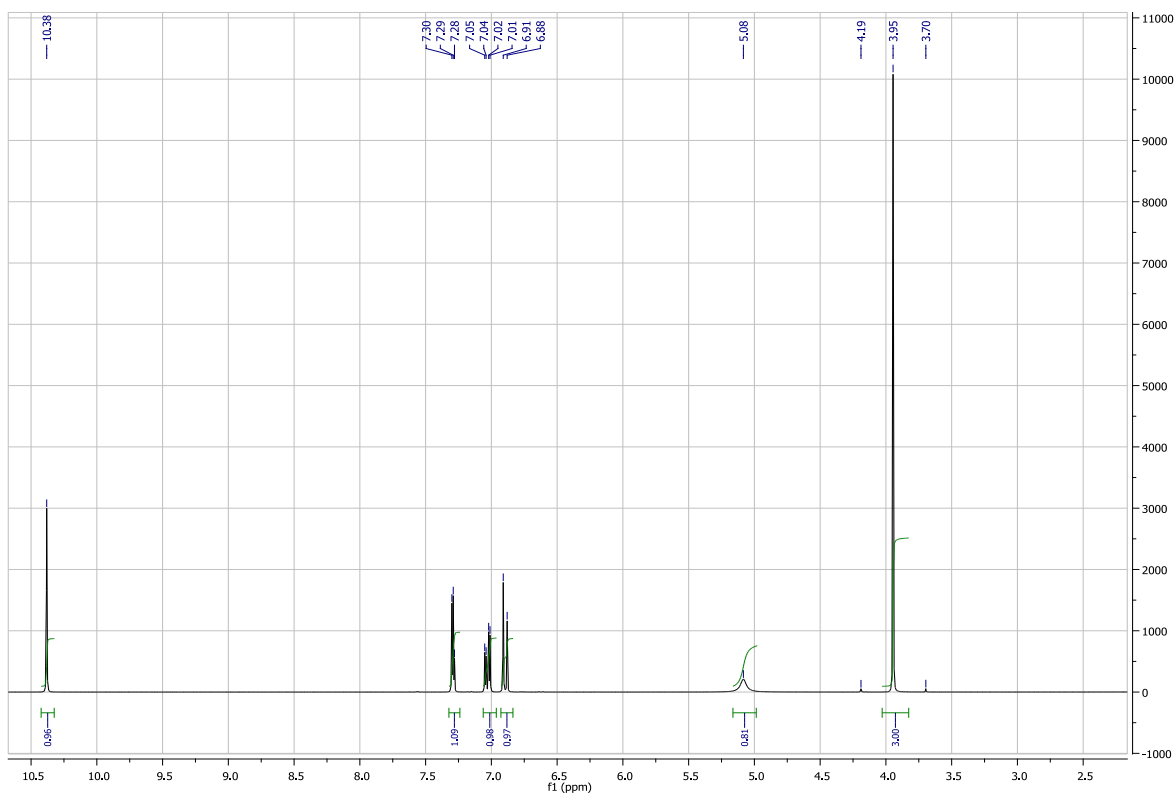
Data

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 3.95 (s, 3H), 5.08 (s, 1H), 6.91 (d, *J*=8.93 Hz, 1H), 7.04 (dd, *J*=3.11 Hz *J*=8.93 Hz, 1H), 7.30 (d, *J*=3.11 Hz, 1H) 10.38 (s, 1H)

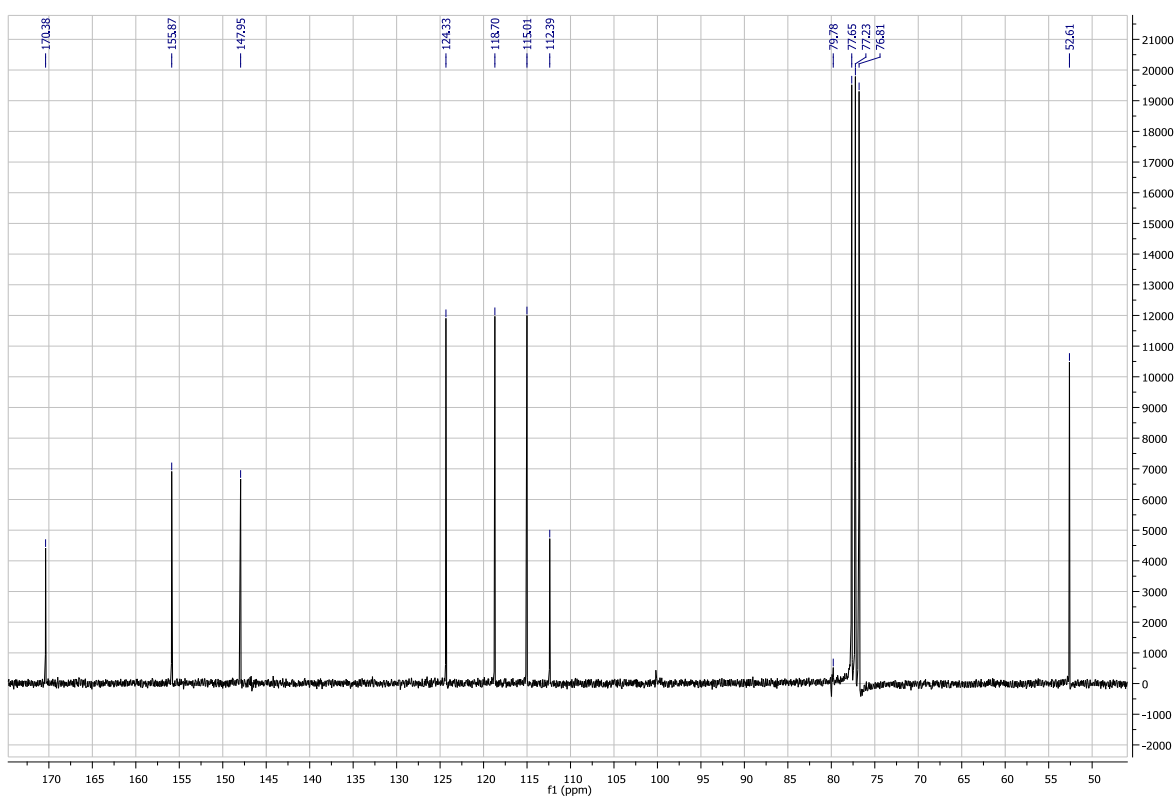
¹³C NMR (75MHz, CDCl₃) δ 52.64, 112.42, 115.04, 118.73, 124.36, 147.98, 155.90, 170.41

Produkt: hvite krystaller, smeltepunkt: 86-87°C

Utbytte: 56 %

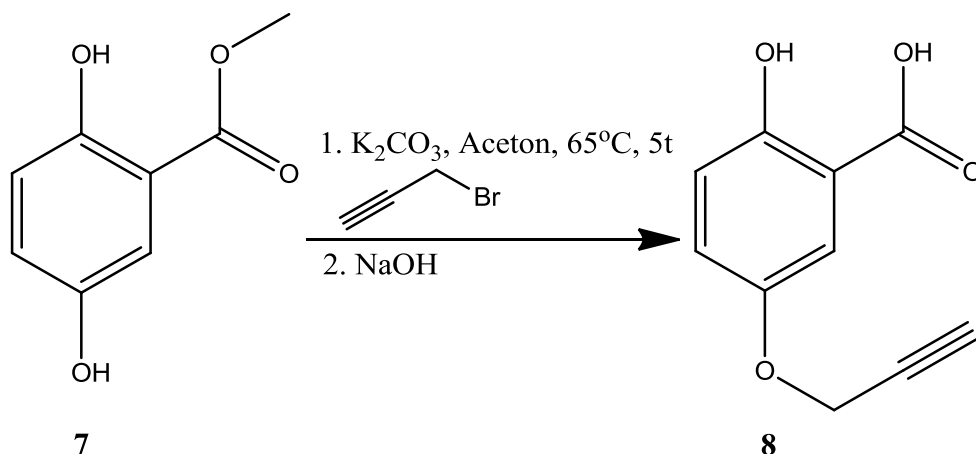


Spekter 4.13: ^1H NMR spekter av forbindelse 7.



Spekter 4.14: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 7.

4.9 Syntese av metyl 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoat



Referanse

A. B. Brown og H. W. Whitlock, *Synth. Commun.* **1993**, 23, 23-34.^[20]

Fremgangsmåte

Forbindelse **7** (168 mg, 1 mmol) ble løst i aceton (15 ml). Løsningen ble tilsatt K_2CO_3 (4 mmol, 553 mg) og propargylbromid (1,4 mmol, 167 mg). Reaksjonen ble refluxert i 5 h. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og tilsatt vann (20 ml). Løsningen ble overført til en skilletrakt og ekstrahert med Et_2O (3x10 ml). Organisk fase ble deretter ekstrahert med 1M NaOH (5x5 ml) og 2M NaOH (5x5 ml). De samlede vannfaseekstraktene ble stående i kjøleskap til blandingen har skiftet farge fra grønn til gul. Den gule blandingen ble gjort sur med konsentrert HCl (3,75 ml). Produktet ble felt ut, og filtrert bort under vakuum.

Data

IR (tynn film): ν_{max} 3235 cm^{-1} (bred), 2254 cm^{-1} , 1682 cm^{-1}

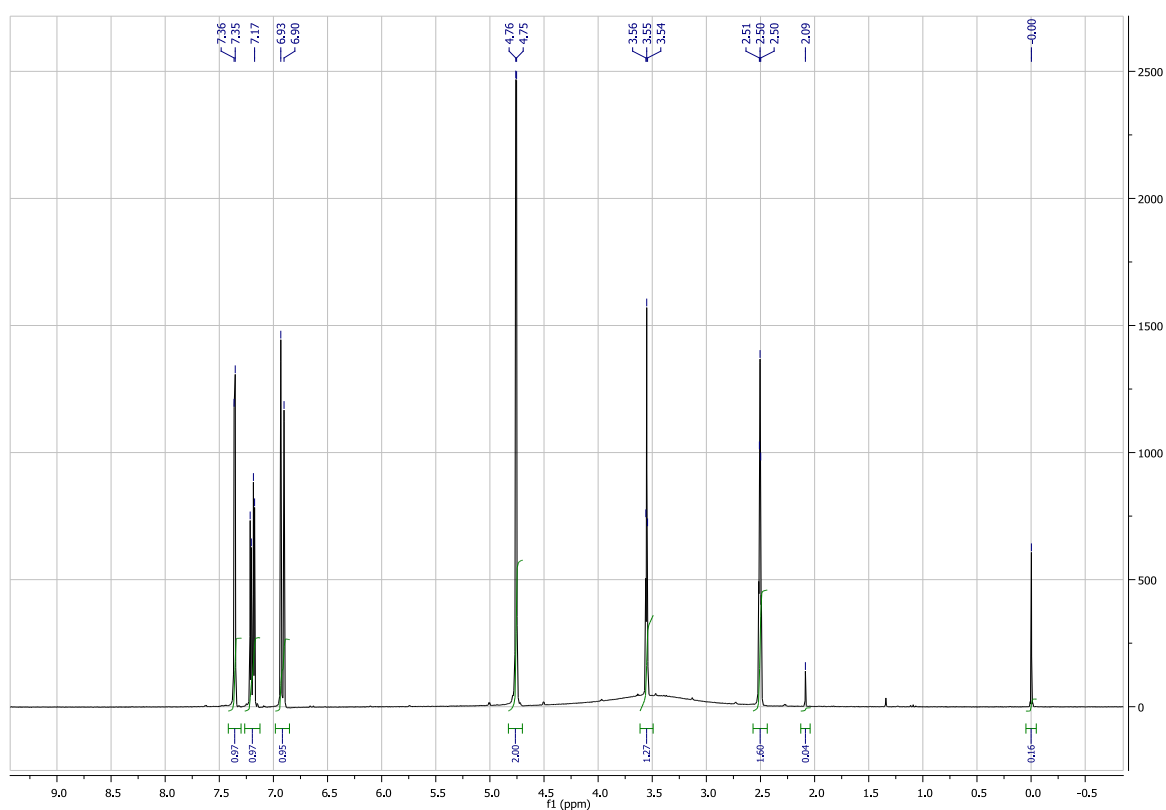
^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 3.55 (t, $J=2.37$ Hz, 1H), 4.76 (d, $J=2.37$ Hz, 2H), 6.92 (d, $J=9.01$ Hz, 1H), 7.19 (dd, $J=3.21$ Hz $J=9.01$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J=3.21$ Hz, 1H)

^{13}C NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 56.14, 78.33, 79.24, 112.64, 114.39, 118.10, 124.34, 149.38, 155.88, 171.47

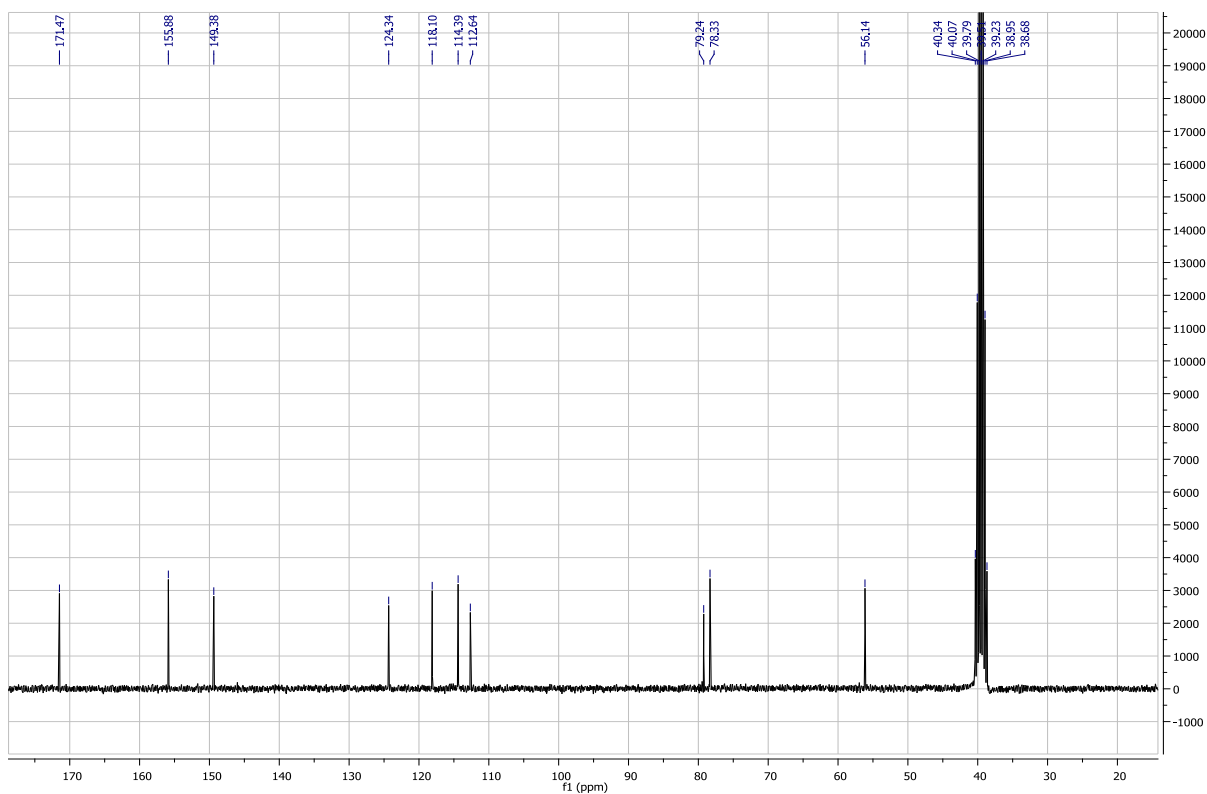
Produkt: hvite krystaller, smeltepunkt: 71-72°C

Rf-verdi: 0,64 (6:4 heksan:EtOAc)

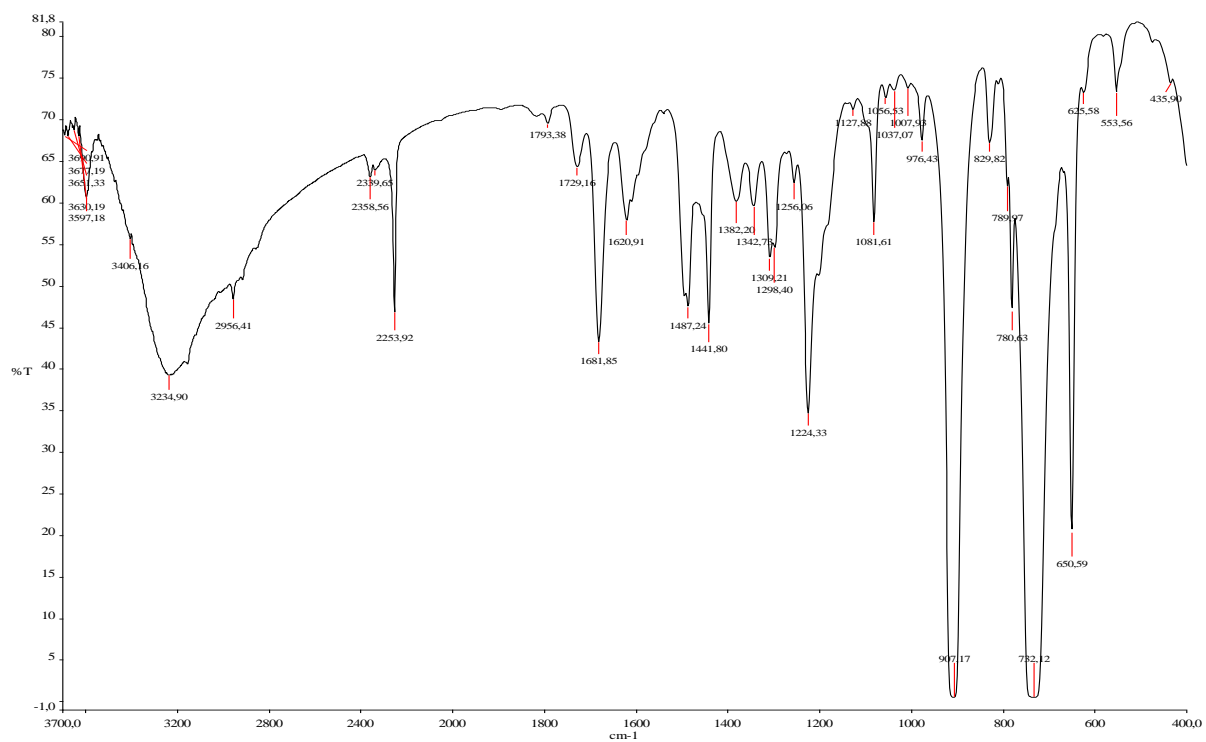
Utbytte: 79 %



Spekter 4.15: ^1H NMR spekter av forbindelse 8.

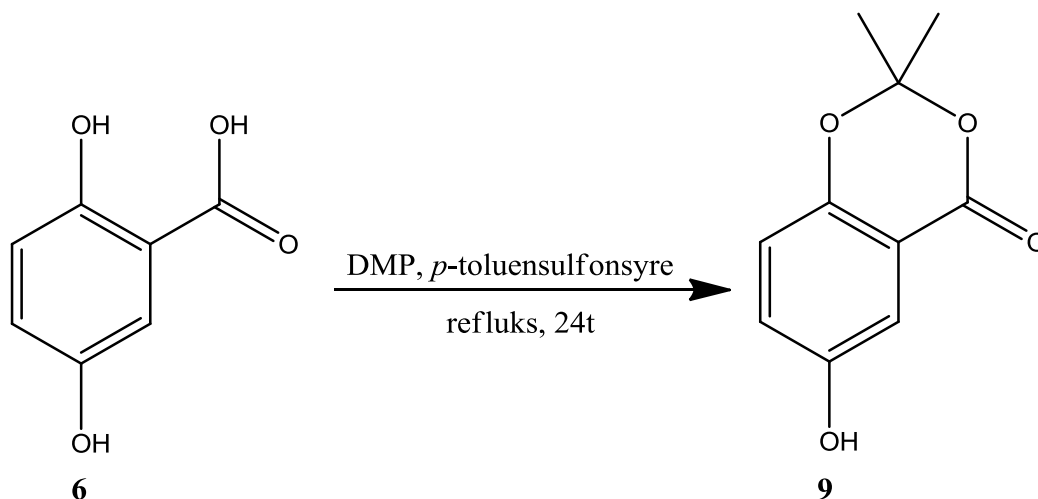


Spekter 4.16: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 8.



Spekter 4.17: IR-spekter av forbindelse 8.

4.10 Syntese av 6-hydroksy-2,2-dimetyl-4H-benzo[d][1,3]dioksin-4-on



Referanse

S. Kamisuki, S. Takahashi, Y. Mizushina, S. Hanashima, K. Kuramochi, S. Kobayashi, K. Sakaguchi, T. Nakata og F. Sugawara, *Tetrahedron* **2004**, 60, 5695-5700.^[26]

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.702-705.^[24]

Fremgangsmåte

Forbindelse **6** (1,552 g, 10 mmol) ble veid ut i en rundkolbe og 2,2-dimetoksypropan (DMP) (40 ml) og *p*-toluensulfonsyre (20 mg, 0,1 mmol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble varmet opp og refluxert i 24 timer. Varmemantelen ble fjernet og reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur. Dietyleter (50 ml) ble tilsatt og blandingen ble overført til en skilletrakt hvor den ble vasket med mettet NaHCO₃-løsning (5x30 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄. Produktet ble ytterligere rensed ved hjelp av flashkromatografi (heksan:EtOAc 1:1).

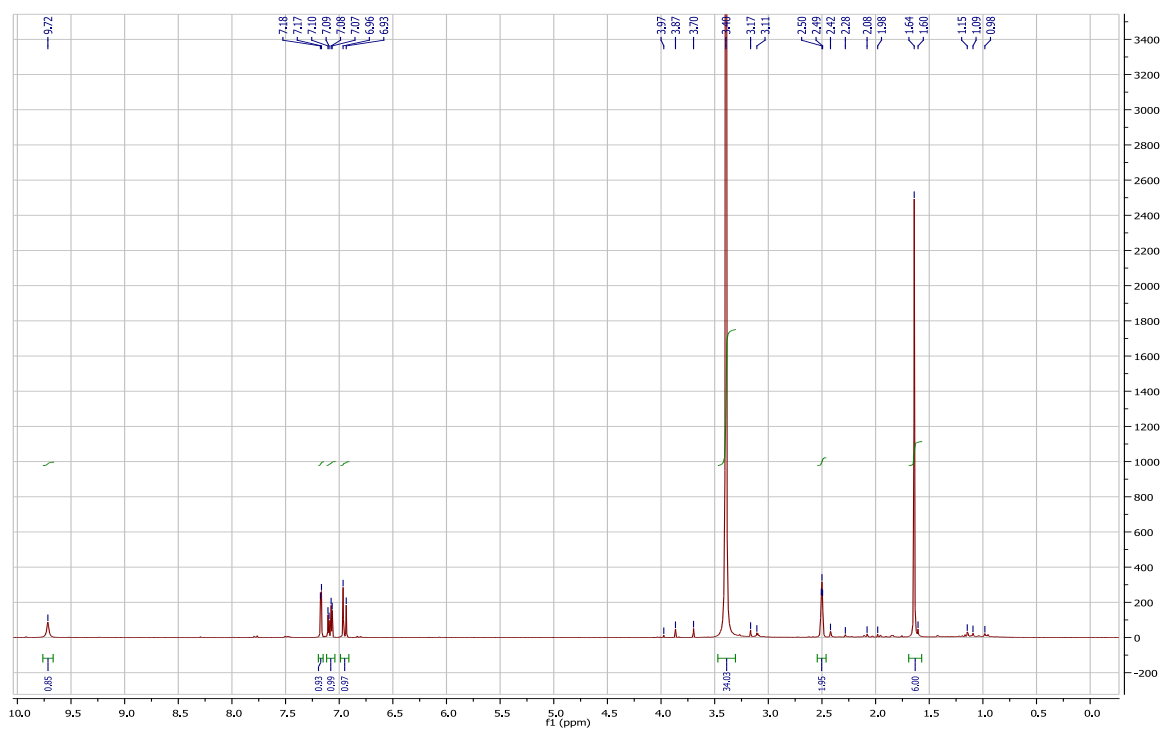
Data

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.64 (s, 6H), 6.89 (d, *J*=9.0 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J*=3.1 Hz, *J*=9.0 Hz, 1H), 7.48 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 9.72 (s, 1H)

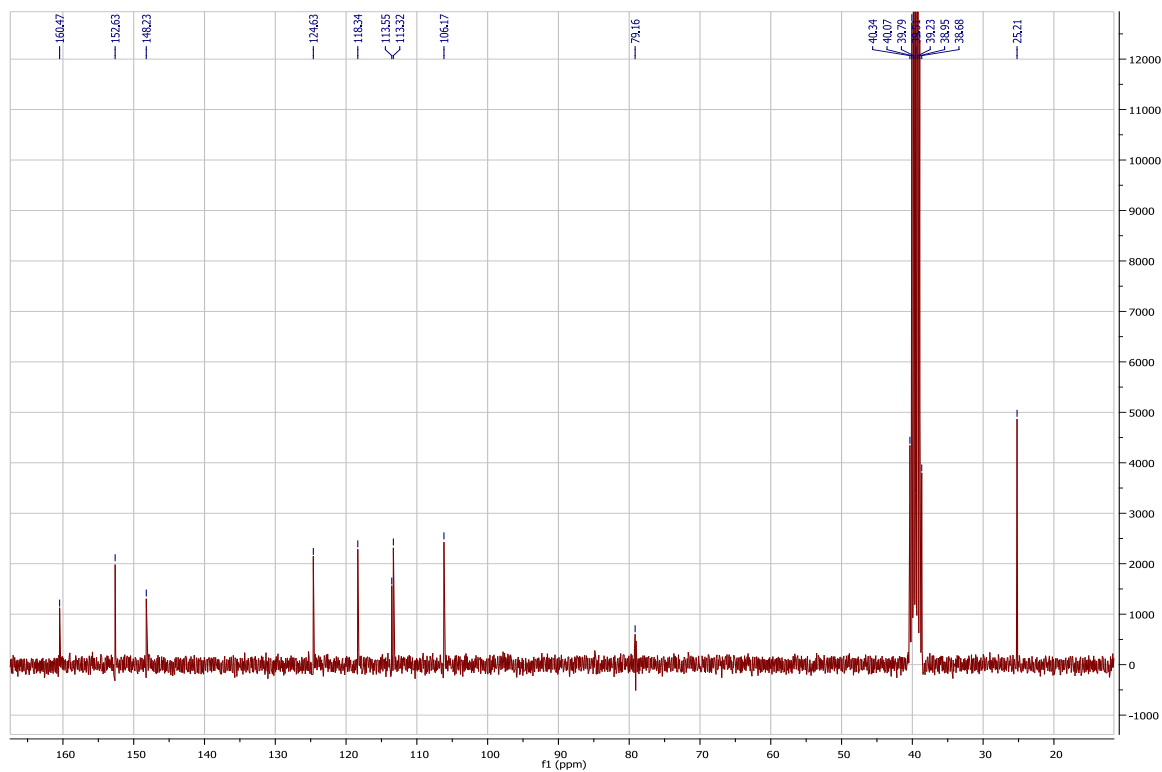
¹³C NMR (75MHz, CDCl₃) δ 25.21, 106.17, 113.32, 113.55, 118.34, 124.63, 148.23, 152.63, 160.47

Produkt: hvite krystaller.

Utbytte: 13%

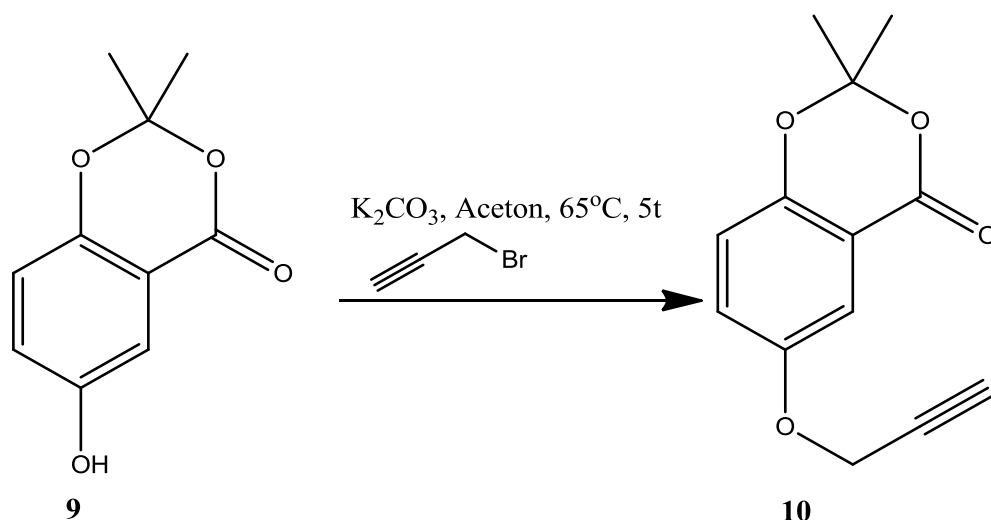


Spekter 4.18: ^1H NMR spekter av forbindelse 9.



Spekter 4.19: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 9.

4.11 Syntese av 2,2-dimetyl-6-(prop-2-yn-1-yloksy)-4H-benzo[d][1,3]dioksin-4-on



Referanse

A. B. Brown og H. W. Whitlock, *Synth. Commun.* **1993**, 23, 23-34.^[20]

Fremgangsmåte

Fobindelse **9** (194 mg, 1 mmol) ble veid ut og tilsatt K_2CO_3 (550 mg, 4 mmol) og aceton (10 ml). Blandingen ble varmet opp, propargylbromid (170 mg, 1,4 mmol) ble tilsatt dråpevis under omrøring. Reaksjonen ble refluksert i 4,5 timer og sjekket på TLC (heksan:EtOAc 6:4, R_f 0,63). Vann (30 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble overført til en skilletrakt. Produktet ble ekstrahert ut med Et_2O (3x20 ml). De samlede eterfasene ble vasket med 2M HCl (3x20 ml). Eterfasene ble tørket over $MgSO_4$ og dampet inn på rotavapor. Produktet ble ytterligere rensset ved hjelp av flashkromatografi (heksan:EtOAc 1:1).

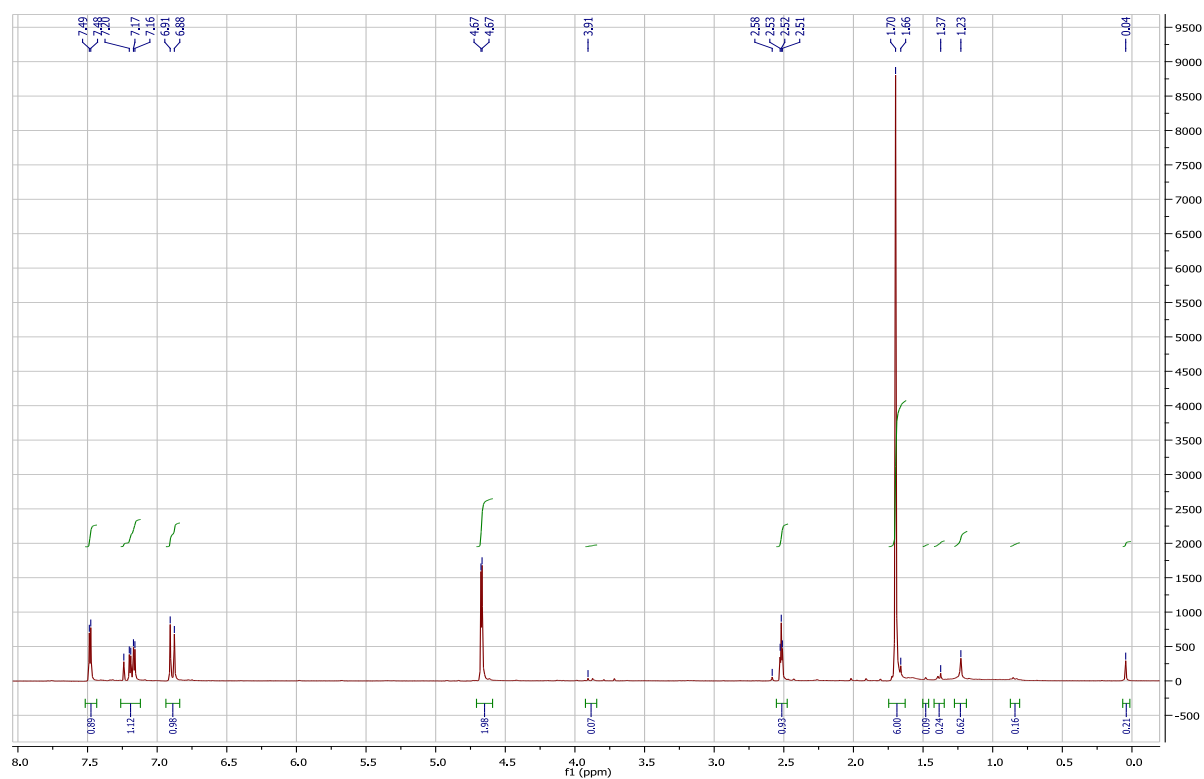
Data

1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 1.70 (s, 6H), 2.52 (t, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.67 (d, $J=2.4$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J=3.11$ Hz $J=8.96$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J=3.1$ Hz, 1H)

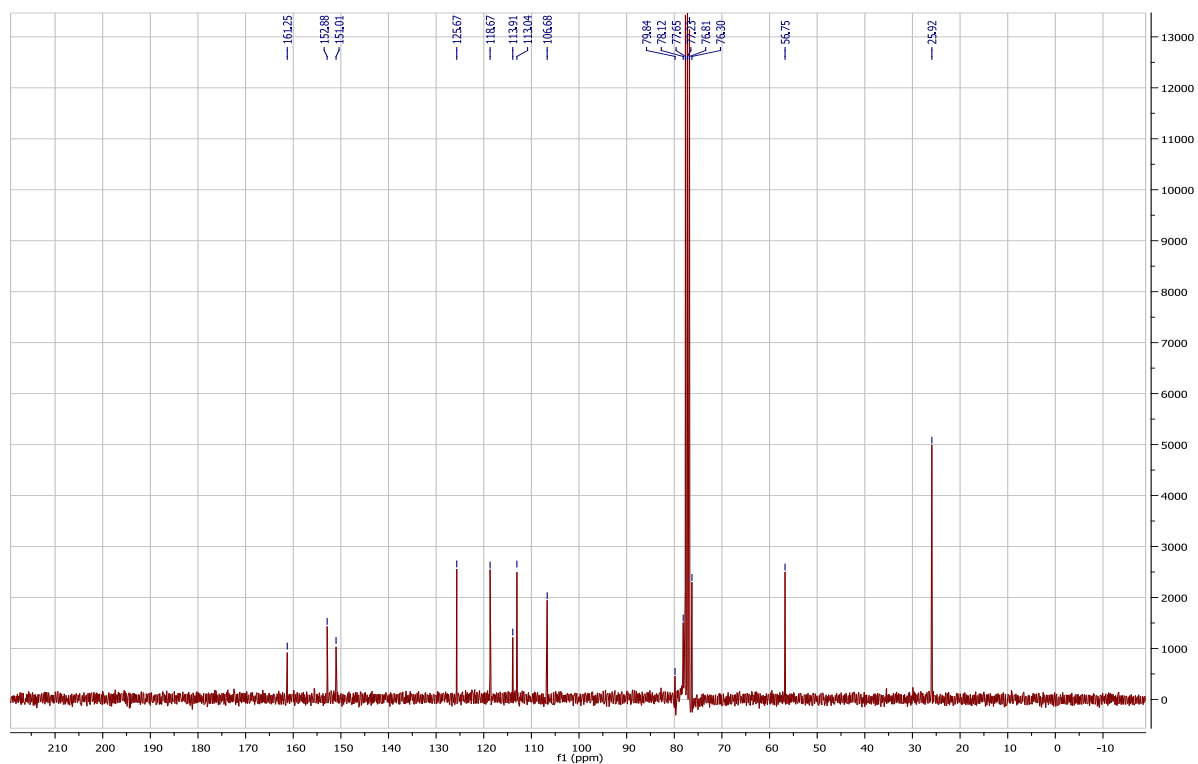
^{13}C NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 25.92, 56.75, 76.30, 78.12, 106.68, 113.04, 113.91, 118.67, 125.67, 151.01, 152.88, 161.25

Produkt: hvite krystaller.

Utbytte: 83 %

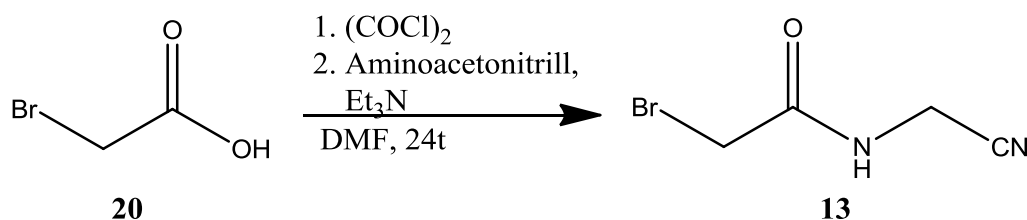


Spekter 4.20: ^1H NMR spekter av forbindelse 10.



Spekter 4.21: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 10.

4.12 Forsøk på syntese av 2-bromo-*N*-(cyanometyl)acetamid



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s. 804-805.^[36]

P. A. Bethel, S. Gerhardt, E. V. Jones, P. W. Kenny, G. I. Karoutchi, A. D. Morley, K. Oldham, N. Rankine, M. Augustine, S. Krapp, H. Simander og S. Steinbacher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4622-4625.^[37]

M. B. Smith og J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley, New Jersey, **2007**, 6, s. 1427-1431.^[38]

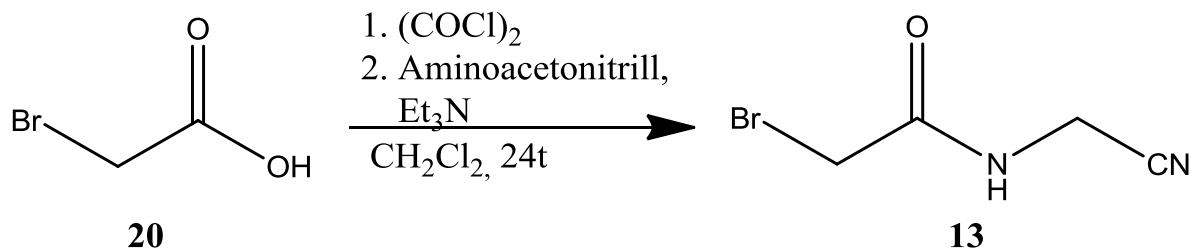
Fremgangsmåte

Forbindelse **20** (600 mg, 4 mmol, 1 ekviv.) ble løst i DMF (30 ml) ved 0°C. Oksalylchlorid (0,6 ml, 4 mmol, 1 ekviv.) ble tilsatt dråpevis over 10 minutter. Reaksjonen ble stående ytterligere 15 minutter på isbad. Etter 1,5 time ved romtemperatur ble reaksjonen igjen kjølt ned på isbad og trietylamin (0,8 ml, 8 mmol, 2 ekviv.) ble tilsatt dråpevis over 5 minutter. Etter 30 minutter ble aminoacetonitrill (280 mg, 5 mmol, 1,25 ekviv.) tilsatt. Etter ytterligere 15 minutter ble isbadet fjernet og blandingen stod under omrøring ved romtemperatur i 18 timer. Blandingene ble tilsatt mettet NaCl-løsning (30 ml), overført til en skilletrakt og vasket først med Et₂O (4x30 ml) og deretter EtOAc (4x30 ml). Organisk fase ble dampet inn, minimalt med produkt.

Data

Ikke produkt

4.13 Forsøk på syntese av 2-bromo-*N*-(cyanometyl)acetamid **2**



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.797-799.^[36]

P. A. Bethel, S. Gerhardt, E. V. Jones, P. W. Kenny, G. I. Karoutchi, A. D. Morley, K. Oldham, N. Rankine, M. Augustine, S. Krapp, H. Simander og S. Steinbacher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4622-4625.^[37]

M. B. Smith og J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley, New Jersey, **2007**, 6, s. 1427-1431.^[38]

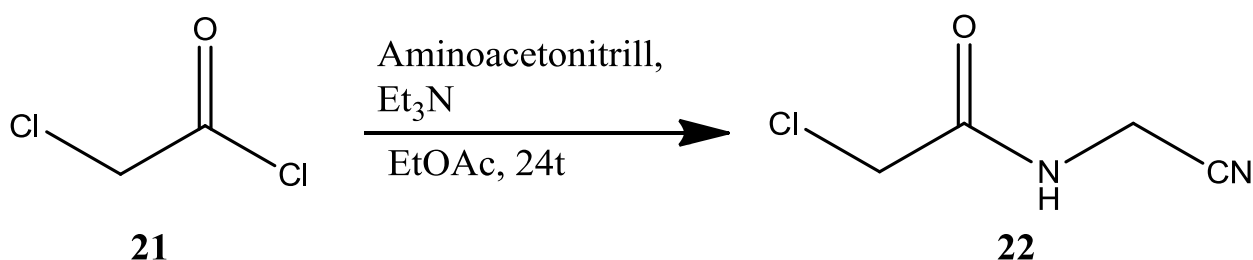
Fremgangsmåte

Forbindelse **20** (599 mg, 4 mmol, 1 ekviv.) ble løst i CH₂Cl₂ (30 ml) ved 0°C. Oksalylklorid (0,6 ml, 4 mmol, 1 ekviv.) ble tilsatt dråpevis over 10 minutter. Reaksjonen ble stående ytterligere 15 minutter på isbad. Etter 1,5 time ved romtemperatur ble reaksjonen kjølt ned på isbad og trietylamin (0,8 ml, 8 mmol, 2 ekviv.) ble tilsatt dråpevis over 5 minutter. Etter 30 minutter ble aminoacetonitrill (280 mg, 5 mmol, 1,25 ekviv.) tilsatt. Etter 15 minutter ble isbadet fjernet og blandingen stod under omrøring ved romtemperatur i 18 timer. Blandingene ble tilsatt mettet NaCl-løsning (30 ml), overført til en skilletrakt og vasket med NaCl (4x30 ml). Organisk fase ble dampet inn. Stoffet ble prøvd renses ved hjelp av flashkromatografi.

Data

Ikke produkt

4.14 Syntese av 2-bromo-*N*-(cyanometyl)acetamid



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.803.^[39]

P. A. Bethel, S. Gerhardt, E. V. Jones, P. W. Kenny, G. I. Karoutchi, A. D. Morley, K. Oldham, N. Rankine, M. Augustine, S. Krapp, H. Simander og S. Steinbacher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4622-4625.^[37]

M. B. Smith og J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley, New Jersey, **2007**, 6, s. 1427-1431.^[38]

Fremgangsmåte

Forbindelse **21** (0,45 ml, 4 mmol, 1 ekviv.) ble løst i EtOAc (15 ml). Løsningen ble satt på isbad og Et₃N (1 ml, 2 ekviv.) ble tilsatt. Det ble laget en stamløsning av Et₃N (0,3 ml), aminoacetonitrill (0,23 ml, 4 mmol, 1 ekviv.) og EtOAc (ad. 2 ml). Stamløsningen ble tilsatt dråpevis over 15 min. ved hjelp av dryppetrakt. Isbadet ble fjernet og reaksjonen stod ved romtemperatur over natten. Opparbeidelse av reaksjonen ble gjort ved filtrering på sintertrakt med silika og celite og vakuumsug (5-7 repetisjoner).

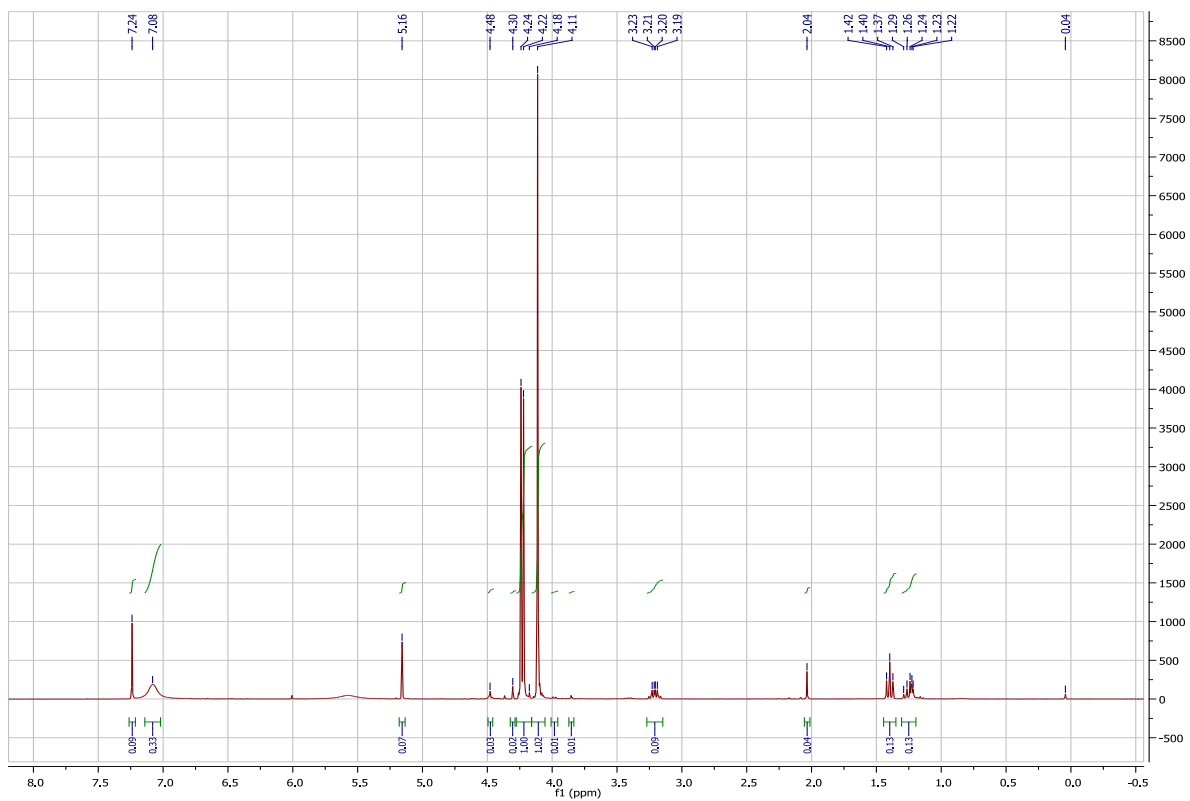
Data

¹H NMR 300MHz (CDCl₃) δ 4.18 (s, 2H), 4.23 (d, *J*=6.26 Hz, 2H), 7.08 (s, 1H)

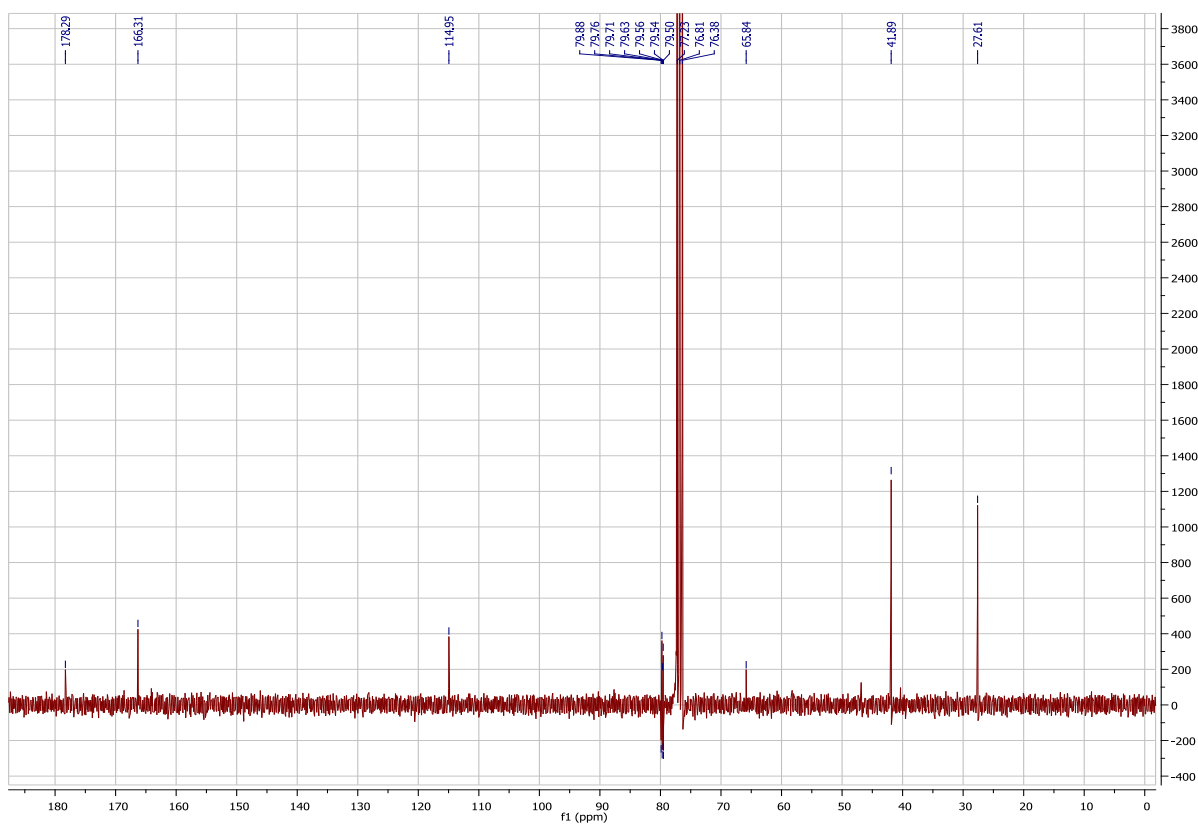
¹³C NMR 75MHz (CDCl₃) δ 28.04, 42.31, 115.37, 166.73

Produkt: Svakt gult, fast stoff. Smeltepunkt 88°C-90°C

Utbytte: 68 %

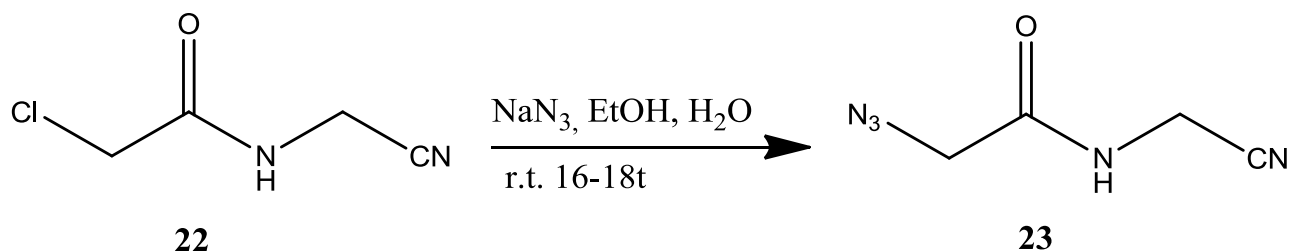


Spekter 4.22: ¹H NMR spekter av forbindelse 22.



Spekter 4.23: ¹³C NMR spekter av forbindelse 22.

4.15 Syntese av 2-azido-*N*-(cyanometyl)acetamid



Referanse

N. Khoukhi, M. Vaultier and R. Carrié, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 1811-1822.^[40]

Fremgangsmåte

Forbindelse **22** (5 mmol, 664 mg, 1 ekviv.) ble løst EtOH:vann (1:1, 20 ml). En stamløsning av NaN_3 (5 mmol, 332 mg, 1 ekviv.) og EtOH:vann (1:1, 10 ml) ble tilsatt dråpevis over 15 minutter ved hjelp av en dryppetrakt. Reaksjonsblandingen stod under omrøring over natta ved romtemperatur. Etter 16-18 timer ble reaksjonen stoppet, reaksjonsblandingen ble tilsatt EtOAc (30 ml) og overført til en skilletrakt. Det ble vasket med 0,1M NaOH (5x30 ml). Organisk fase ble tørket over MgSO_4 og dampet inn.

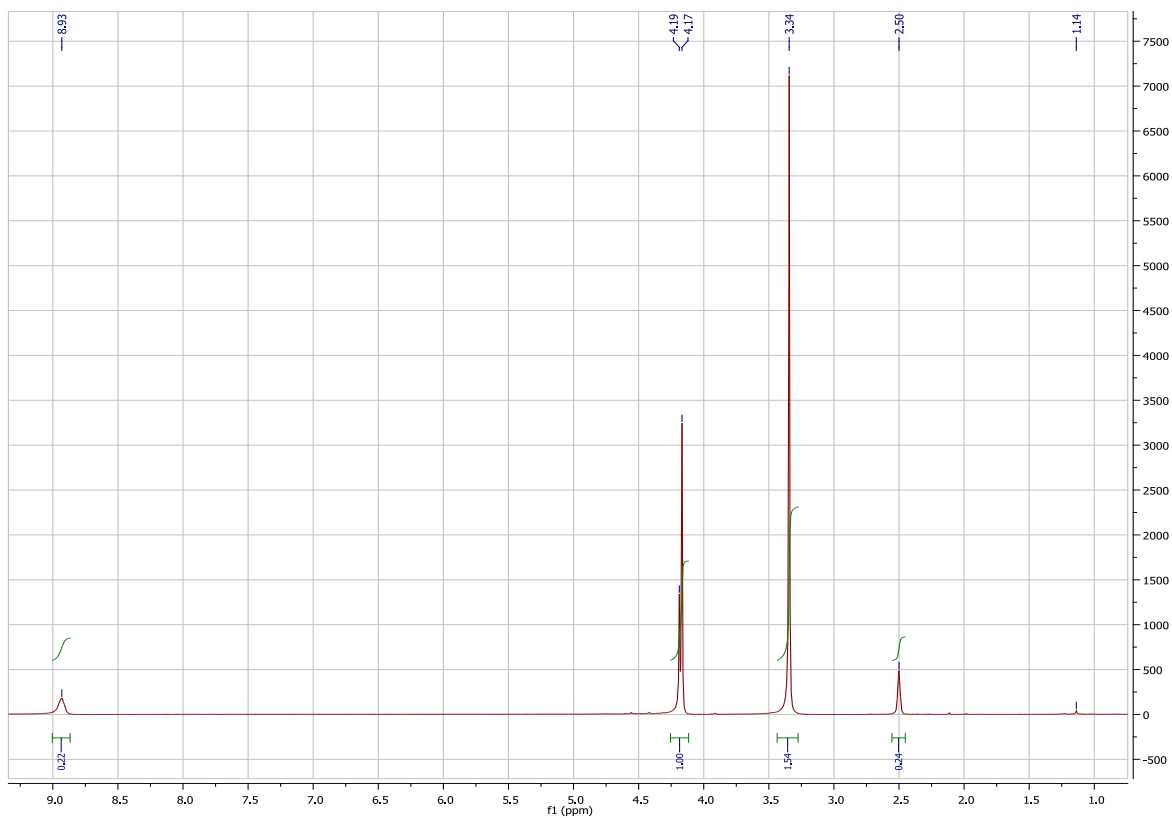
Data

$^1\text{H NMR}$ 300MHz ($\text{DMSO}-d_6$) δ 3.34 (s, 1H), 4.18 (d, $J=6.27$ Hz, 1H), 8.93 (s, 1H)

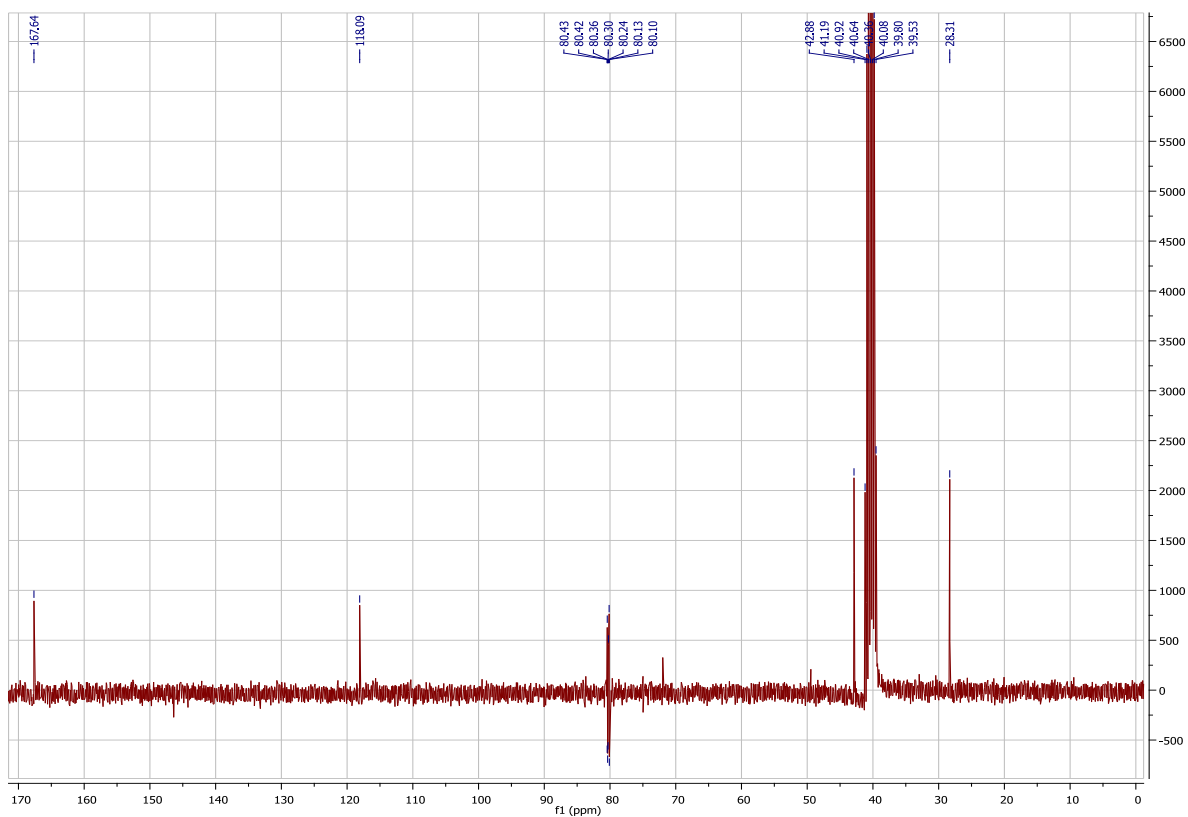
$^{13}\text{C NMR}$ 75MHz ($\text{DMSO}-d_6$) δ 28.31, 42.88, 118.09, 167.64

Produkt: Svakt gult, fast stoff.

Utbytte: 87%

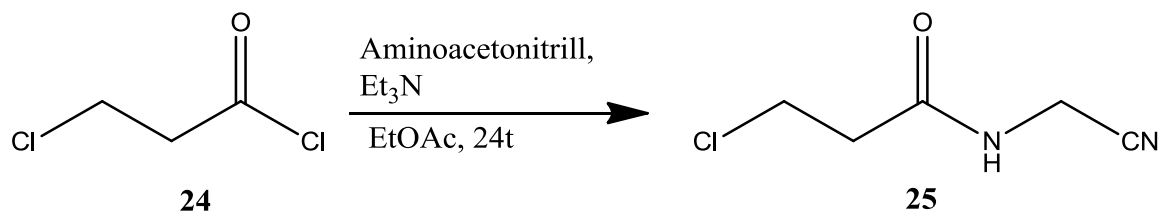


Spekter 4.24: ^1H NMR spekter av forbindelse 23.



Spekter 4.25: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 23.

4.16 Syntese av 3-kloro-*N*-(cyanometyl)propanamid



Referanse

T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s.803.^[39]

P. A. Bethel, S. Gerhardt, E. V. Jones, P. W. Kenny, G. I. Karoutchi, A. D. Morley, K. Oldham, N. Rankine, M. Augustine, S. Krapp, H. Simander og S. Steinbacher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4622-4625.^[37]

M. B. Smith og J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley, New Jersey, **2007**, 6, s. 1427-1431.^[38]

Fremgangsmåte

Forbindelse **24** (0,65 ml, 5 mmol, 1 ekviv.) ble løst i EtOAc (15 ml). Løsningen ble satt på isbad og Et₃N (1 ml, 2 ekviv.) ble tilsatt. Det ble laget en stamløsning av Et₃N (0,3 ml), aminoacetonitrill (0,23 ml, 4 mmol, 1 ekviv.) og EtOAc (ad. 2 ml). Stamløsningen ble tilsatt dråpevis over 15 min. ved hjelp av dryppetrakt. Isbadet ble fjernet og reaksjonen stod ved romtemperatur over natten. Opparbeidelse av reaksjonen ble gjort ved filtrering på sintertrakt med silika og celite og vakuumsug (5-7 repetisjoner)

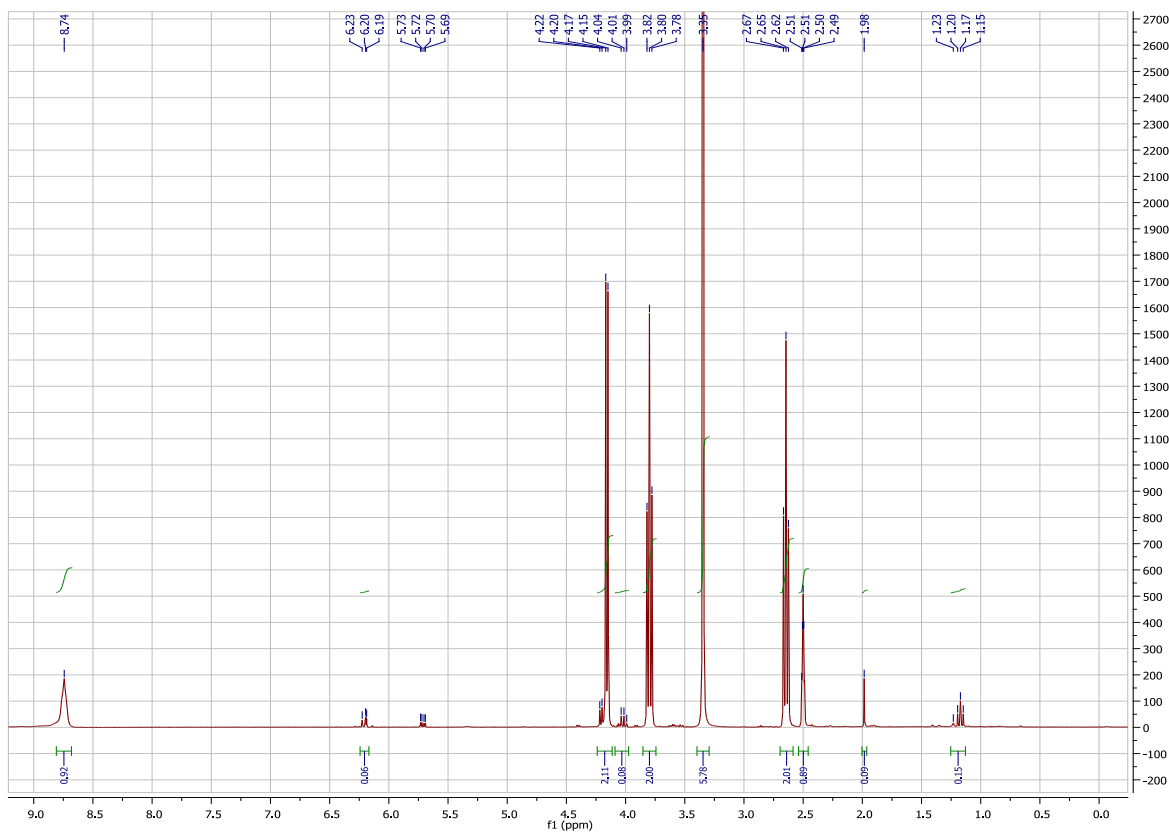
Data

¹H NMR 300MHz (DMSO-*d*₆) δ 2.65 (t, *J*=6.26 Hz, 2H), 3.80 (t, *J*=6.26 Hz, 2H) 4.16 (d, *J*=5.61 Hz, 1H), 8.80 (s, 1H)

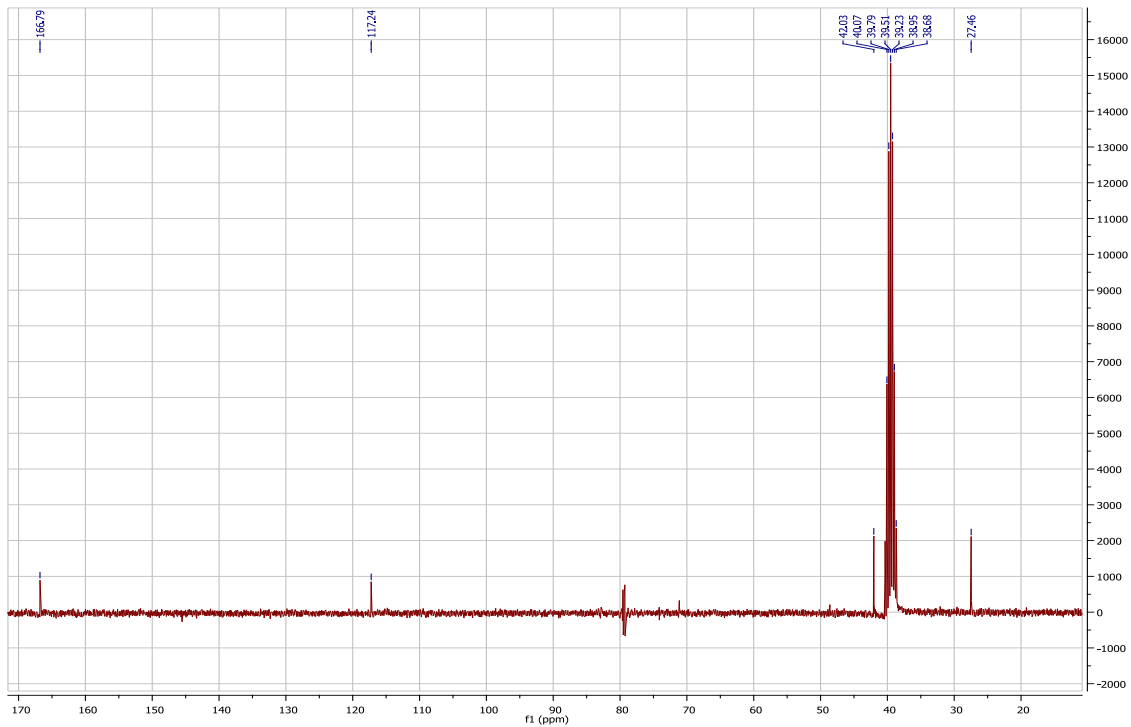
¹³C NMR 75MHz (DMSO-*d*₆) δ 27.46, 38.68, 40.03, 117.24, 166.79

Produkt: Svakt gult, fast stoff.

Utbytte: 62 %

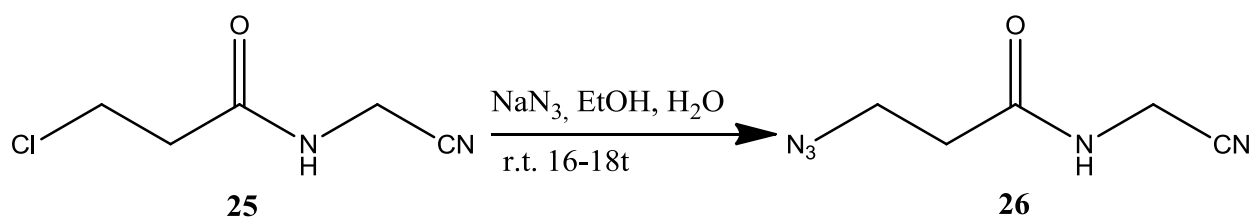


Spekter 4.26: ¹H NMR spekter av forbindelse 25.



Spekter 4.27: ¹³C NMR spekter av forbindelse 25.

4.17 Syntese av 3-azido-*N*-(cyanometyl)propanamid



Referanse

N. Khoukhi, M. Vaultier and R. Carrié, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 1811-1822.^[37]

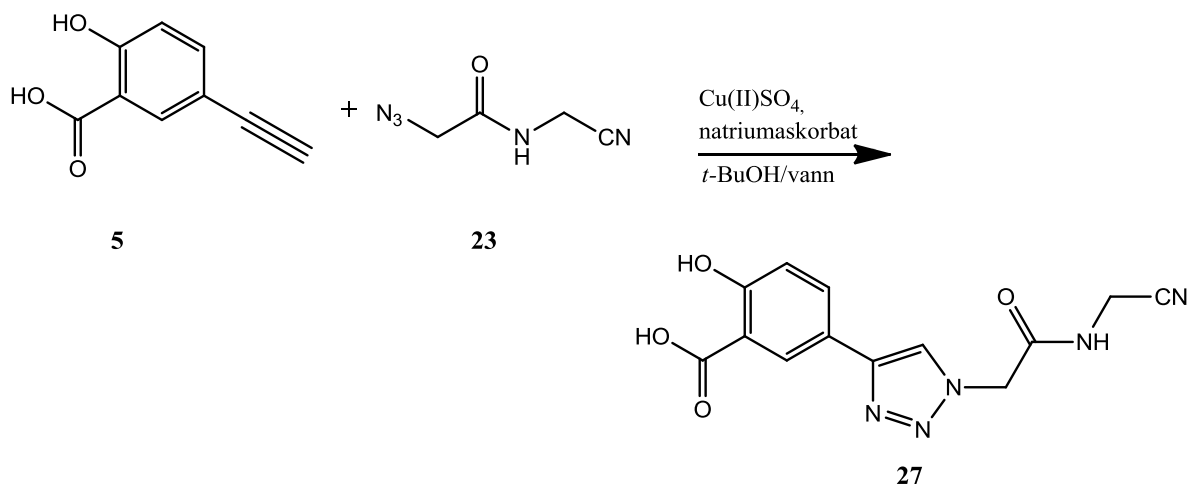
Fremgangsmåte

Forbindelse **25** (5 mmol, 733 mg/800 mg, 1 ekviv.) ble løst i EtOH:vann (1:1, 20 ml). En stamløsning av NaN₃ (5 mmol, 332 mg, 1 ekviv.) og EtOH:vann (1:1, 10 ml) ble tilsatt dråpevis over 15 minutter ved hjelp av en dryppetrakt. Reaksjonsblandingen stod under omrøring over natta ved romtemperatur. Etter 16-18 timer ble reaksjonen stoppet, reaksjonsblandingen ble tilsatt EtOAc (30 ml) og overført til en skilletrakt. Det ble vasket med 0,1M NaOH (5x30 ml). Organisk fase ble tørket over MgSO₄ og dampet inn.

Data

Ikke produkt

4.18 Syntese av 5-((1-(2/3-((cyanometyl)amino)-2/3-oksoetyl/oksopropyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metoksy)-2-hydroksybenzosyre



Referanse

V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin og K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.^[28]

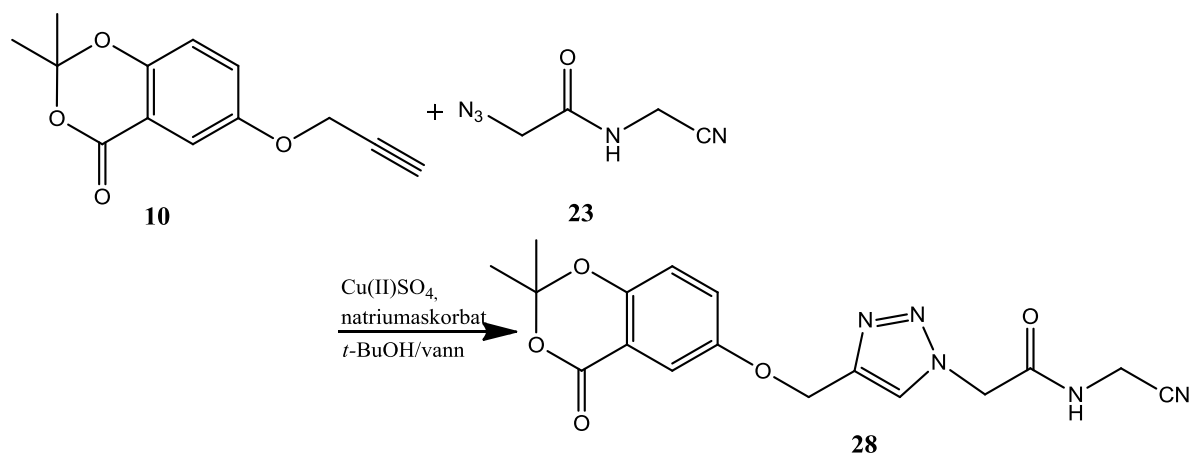
Fremgangsmåte

Alkynet, forbindelse **5** (1 mmol) og azidet, forbindelse **23** (1 mmol) ble løst i tert-BuOH/H₂O (1:1, 10ml). Natriumaskorbat (20 mol %) og kobbersulfat (10 mol %) ble tilsatt. Blandingen ble rørt i 16-18 timer. Vann/is ble tilsatt og det skulle bli dannet et bunnvfall som skulle bli filtrert bort og vasket med vandig NH₃ (3,5 %) (3x30 ml) og kaldt vann (3x30 ml). Produktet skulle ytterligere bli rensed ved hjelp av flash kromatografi, med heksan:EtOAc (4:1) som eluent.

Data

Ikke produkt

4.19 Syntese av *N*-(cyanometyl)-2-(4-(((2,2-dimetyl-4-oxo-4*H*-benzo[d][1,3]dioxin-6-yl)oxy)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)acetamid



Referanse

V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin og K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.^[28]

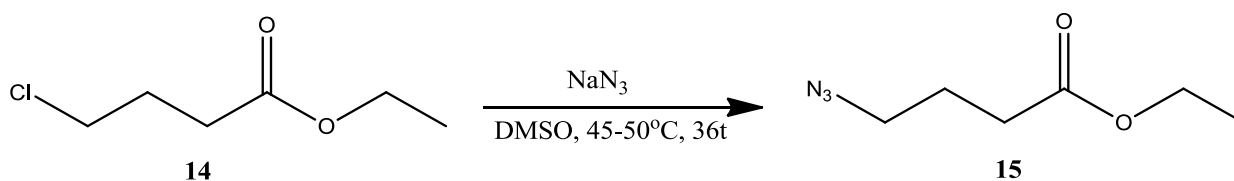
Fremgangsmåte

Alkynet, forbindelse **10** (1 mmol) og azidet, forbindelse **23** (1 mmol), ble løst i tert-BuOH/H₂O (1:1, 10ml). Natriumaskorbat (20 mol %) og kobbersulfat (10 mol %) ble tilsatt. Blandingen ble rørt i 16-18 timer. Vann/is ble tilsatt og det skulle bli dannet et bunnvfall som skulle bli filtrert bort og vasket med vanndig NH₃ (3,5 %) (3x30 ml) og kaldt vann (3x30 ml). Produktet skulle ytterligere bli rensset ved hjelp av flashkromatografi (heksan:EtOAc 4:1).

Data

Ikke produkt

4.20 Syntese av etyl 4-azidobutanoat



Referanse

N. Khoukhi, M. Vaultier and R. Carrié, *Tetrahedron* **1987**, 43, 1811-1822.^[40]

Fremgangsmåte

Forbindelse **14** (5 mmol, 664 mg, 1 ekviv.) og ble løst DMSO (10 ml). NaN_3 (7,5 mmol, 498 mg, 1,5 ekviv.) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble varmet opp til 45-50°C. Etter 36 timer ble reaksjonen stoppet. Reaksjonsblandingen ble tilsatt vann (50 ml) og overført til en skilletrakt. Produktet ble ekstrahert ut med Et_2O (5x50 ml) og de samlede organiske fasene ble vakset med Brine (100ml), tørket over MgSO_4 og dampet inn.

Data

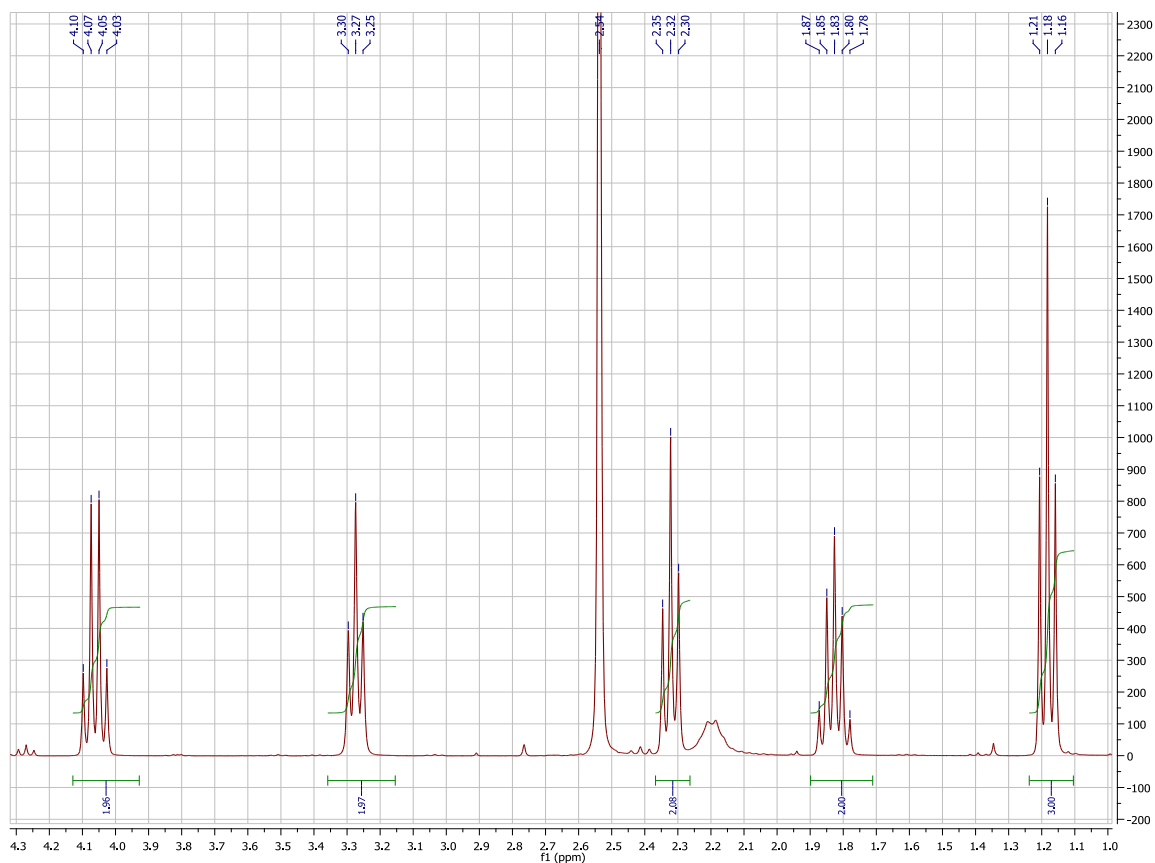
^1H NMR 300MHz (CDCl_3) δ 1.18 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.83 (p, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.32 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.27 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 4.06 (q, $J=7.1$ Hz, 2H)

^{13}C NMR 75MHz (CDCl_3) δ 14.33, 27.91, 32.61, 32.86, 60.64, 172.59

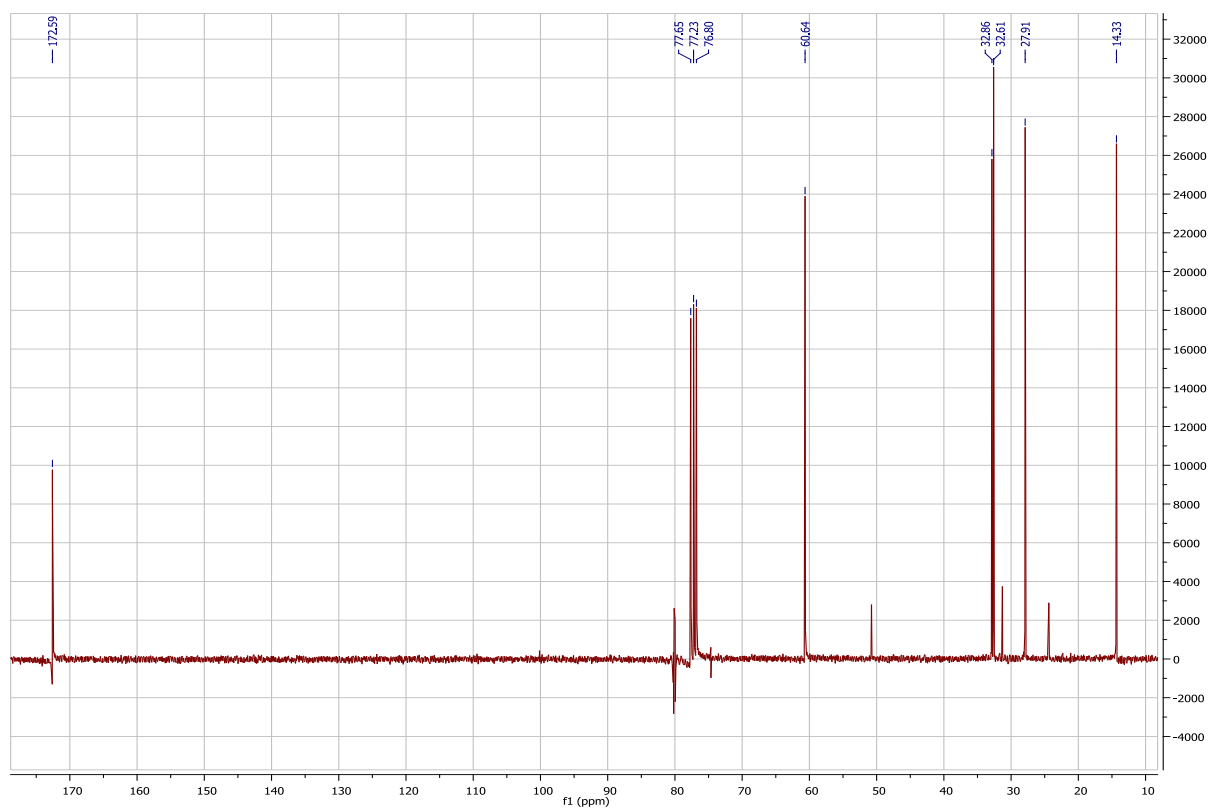
Produkt: Klar, blank væske.

Rf-verdi: 0,71 (heksan:EtOAc 1:1)

Utbytte: 96 %

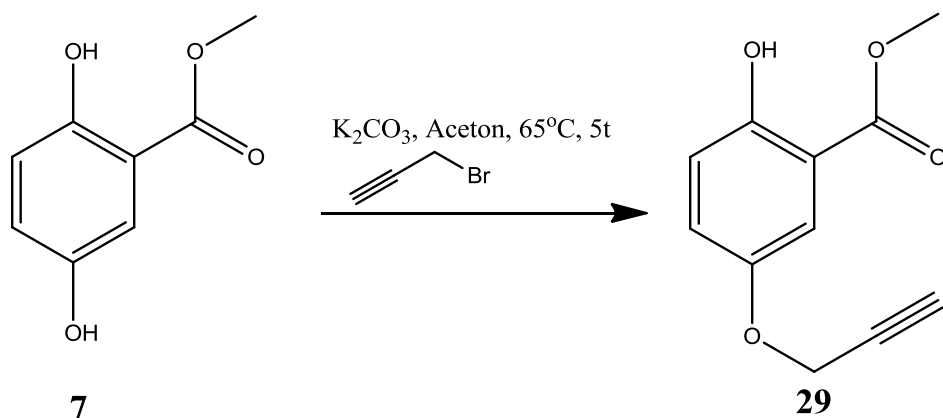


Spekter 4.28: ¹H NMR spekter av forbindelse 15.



Spekter 4.29: ¹³C NMR spekter av forbindelse 15.

4.21 Syntese av metyl 2-hydroksy-5-(prop-2-yn-1-yloksy)benzoat



Referanse

A. B. Brown og H. W. Whitlock, *Synth. Commun.* **1993**, 23, 23-34.^[20]

Fremgangsmåte

Fobindelse **7** (168mg, 1 mmol) ble veid ut og tilsatt K_2CO_3 (550 mg, 4 mmol) og aceton (10 ml). Blandingen ble varmet opp, propargylbromid (170 mg, 1,4 mmol) ble tilsatt dråpevis under omrøring. Reaksjonen ble refluxert i 4,5 timer og sjekket på TLC (heksan:EtOAc 6:4, R_f 0,63). Vann (30 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble overført til en skilletrakt.

Produktet ble ekstrahert ut med Et_2O (3x20 ml). De samlede eterfasene ble vasket med 2M HCl (3x20 ml). Eterfasene ble tørket over $MgSO_4$ og dampet inn på rotavapor. Produktet ble ytterligere rensert ved hjelp av flashkromatografi (heksan:EtOAc 1:1).

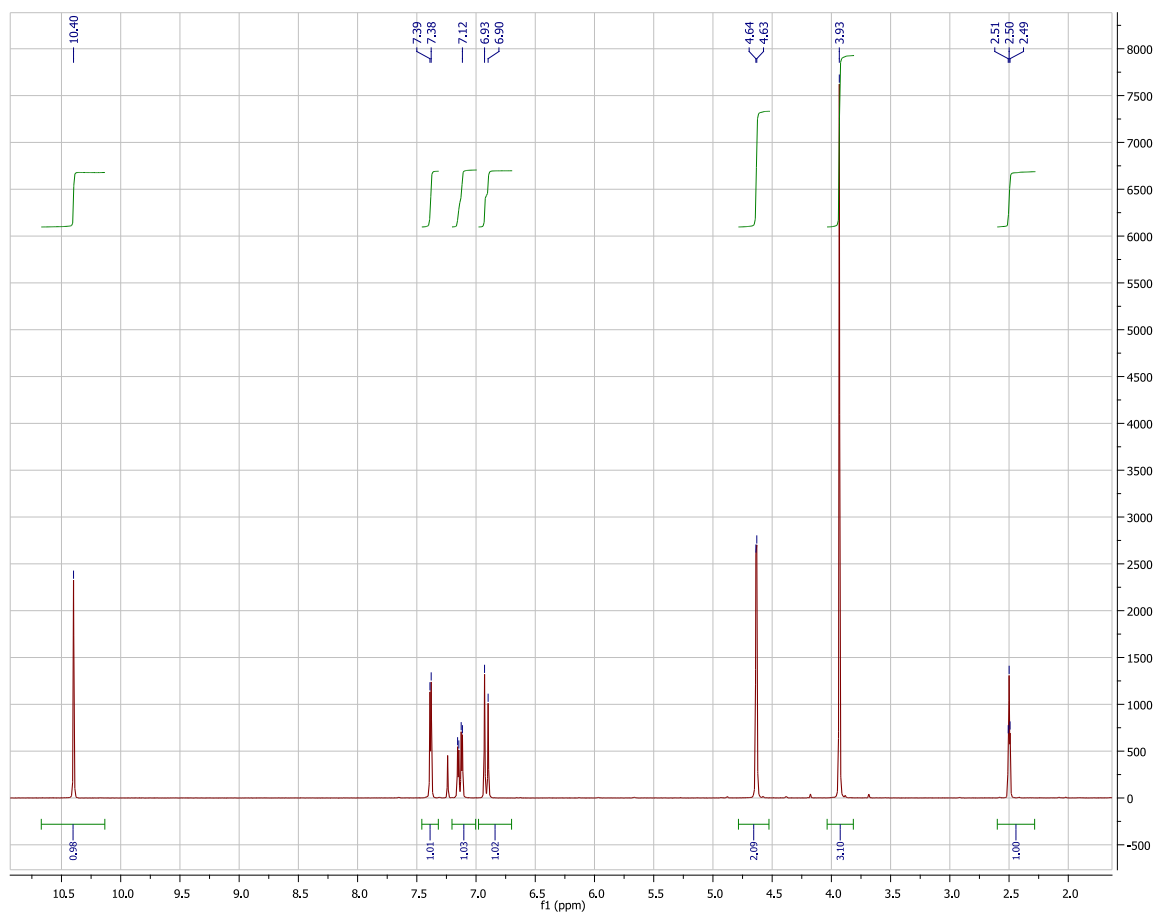
Data

1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 2.50 (t, $J=2.3$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 4.63 (d, $J=2.3$ Hz, 2H), 6.91 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J=3.1$ Hz 9.1 Hz, 1H), 7.38 (d, $J=3.1$ Hz, 1H), 10.40 (s, 1H)

^{13}C NMR Ikke tatt opp

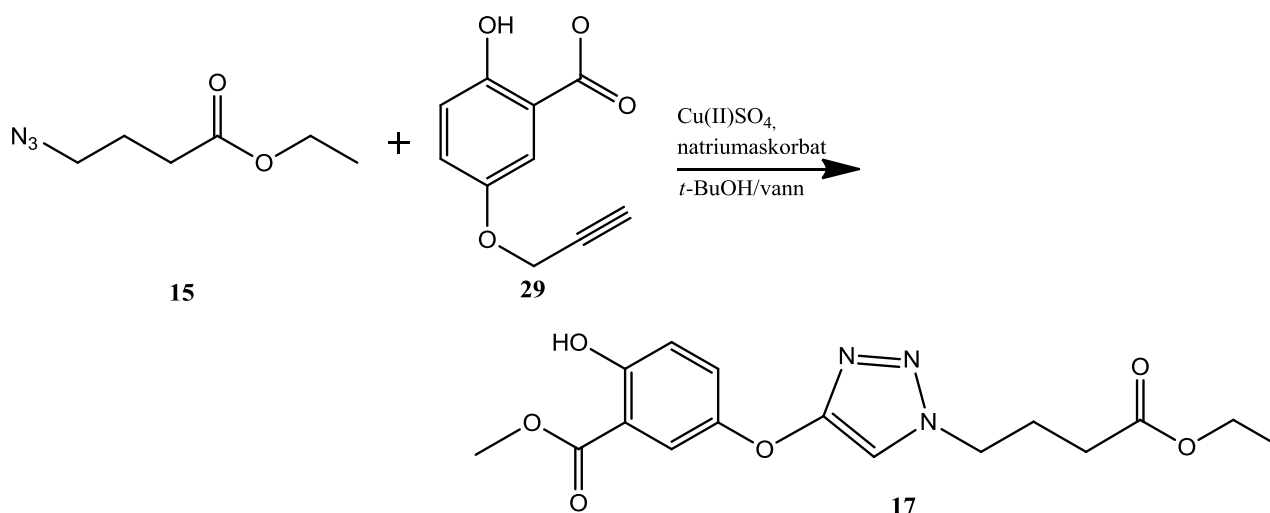
Produkt: hvite krystaller.

Utbytte: 87%



Spekter 4.30: ^1H NMR spekter av forbindelse 29.

4.22 Syntese av 5-((1-(4-((cyanometyl)amino)-4-oksobutyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)-2-hydroksybenzoylsyre



Referanse

V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin og K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.^[28]

Fremgangsmåte

Alkynet, forbindelse **29** (1 mmol) og azidet, forbindelse **15** (1 mmol), ble løst i tert-BuOH/H₂O (1:1, 10ml). Natriumaskorbat (20 mol %) og kobbersulfat (10 mol %) ble tilsatt. Blandingen ble rørt i 16-18 timer. Vann/is ble tilsatt og det ble dannet et bunnfall som ble filtrert bort. Stoffet ble løst i Et₂O (50 ml) og vasket med kaldt vann (5x30 ml). Produktet ble ytterligere rensed ved hjelp av flashkromatografi (heksan:EtOAc 1:1).

Data

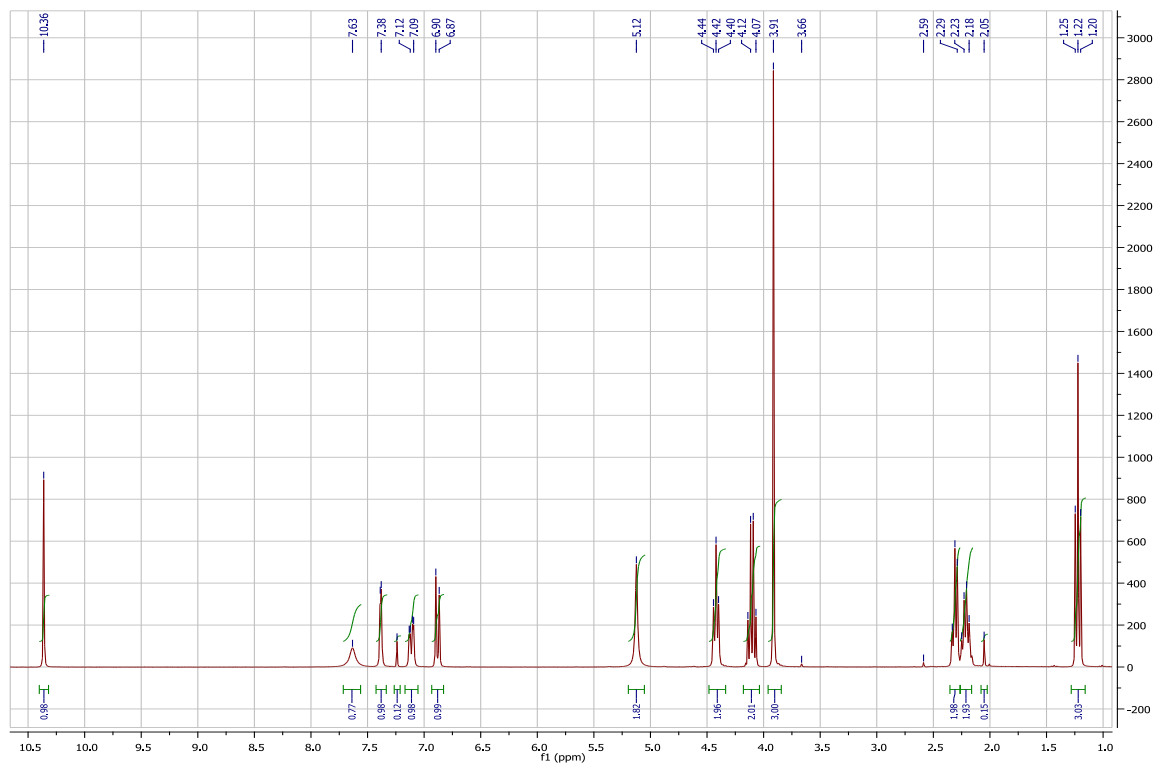
¹H NMR 300MHz (CDCl₃) δ 1.22 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 2.22 (m, 2H), 2.31 (t, $J=6.56$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 4.10 (q, $J=7.1$ Hz, 1H), 4.42 (t, $J=6.7$ Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 6.88 (d, $J=9.0$ Hz, 0H), 7.11 (dd, $J=2.7$ Hz 9.0 Hz, 0H), 7.38 (d, $J=2.6$ Hz, 0H), 7.63 (s, 1H), 10.36 (s, 1H)

^{13}C NMR 75MHz (CDCl_3) δ 14.56, 25.82, 31.03, 49.72, 52.77, 61.13, 63.23, 112.35, 113.99, 119.00, 123.18, 125.15, 144.43, 150.92, 156.84, 170.55, 172.62

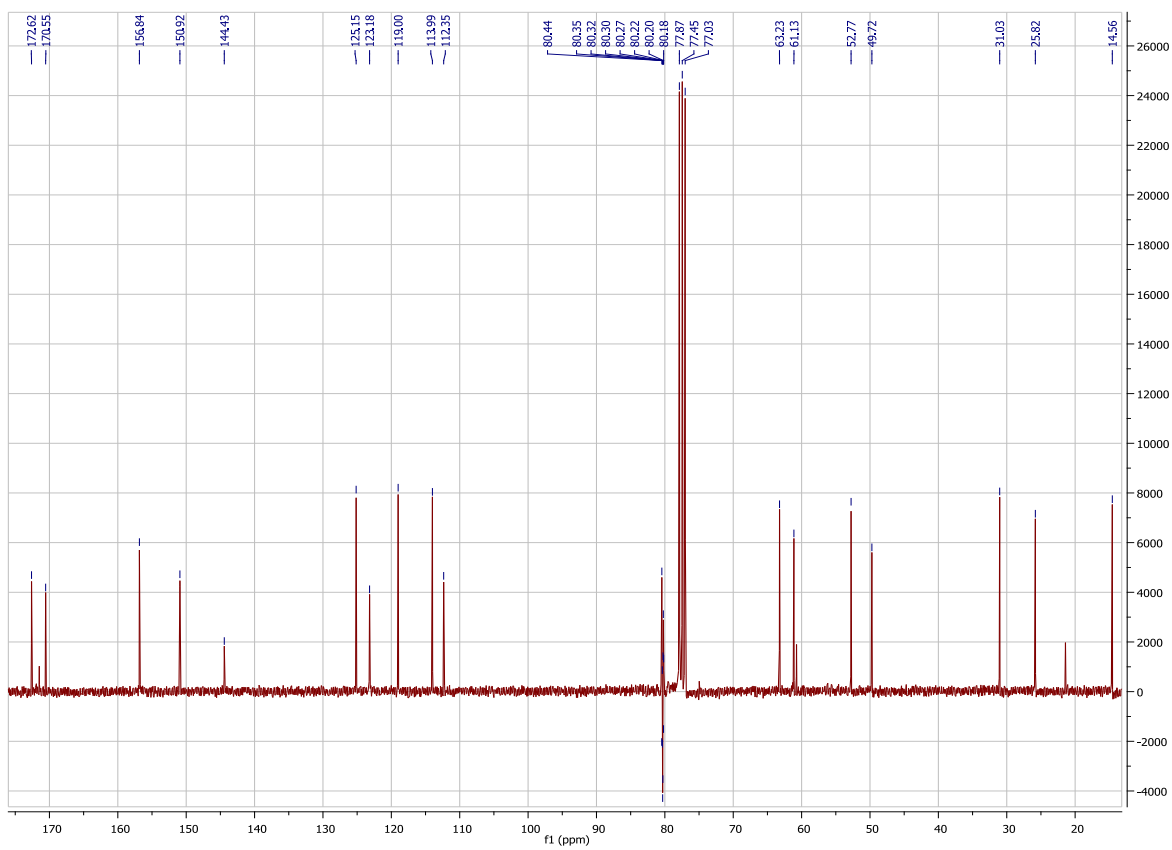
Produkt: Hvitt, fast stoff.

Rf-verdi: 0,40 (heksan:EtOAc 1:1)

Utbytte: 93 %



Spekter 4.31: ^1H NMR spekter av forbindelse 17.



Spekter 4.32: ^{13}C NMR spekter av forbindelse 17.

Litteraturliste

- [1] H. Kaufmann og M. Fussenegger, *Caspase regulation at the molecular level*, Al-Rubeai, M. (red.): *Cell Engineering – Apoptosis*, Kluwer Academic Publishers, **2005**, 4.Ed., s. 1-23.
- [2] K. Vermeulen, D. R. v. Bockstaele og Z. N. Berneman, *Ann. Hematol.* **2005**, 84, 627-639.
- [3] U. Fischer og K. Schulze-Osthof, *Curr. Med. Chem. - Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents* **2005**, 4, 407-419.
- [4] S. Everts, *Small molecule spurs protein executioner into action*
<http://pubs.acs.org/cen/news/84/i38/8438molecule.html>, Chemical & Engineering News, **2006**, aksessert 11.05.2010.
- [5] H. P. Rang, M. M. Dale, J. M. Ritter og P. K. Moore, *Neurodegenerative Disorders*, Hunter, L. (red.): *Pharmacology*, Churchill Livingstone Loanhead, Skottland, **2003**, 5.Ed., s. 490-502.
- [6] E. Brodtkorb, A. Edland, T. Ingebirtsen, J. Isaksen, G. Lundemo, G. O. Skeie, L. J. Stovner, O.-B. Tysnes og J. O. Aasly, *Nevrologiske sykdommer*, Vilberg A. (red.): *Norsk legemiddelhandbok 2007*, Foreningen for utgivelse av norsk legemiddelhåndbok, Oslo, Norge, **2007**, s. 211-236.
- [7] T. Johannessen, I. Løge, T. A. Johannessen, M. Johannessen, M. Lein and B. Johannessen, *Hva er årsaken til Parkinsons sykdom?* <http://nhi.no/sykdommer/hjerne-nervesystem/parkinson/parkinson-arsaker-6811.html>, Norges helseinformatikk, **2002**, aksessert 11.05.2010.
- [8] A. Yoshimori, J. Sakai, S. Sunaga, T. Kobayashi, S. Takahashi, N. Okita, R. Takasawa og S.-i. Tanuma, *BMC Pharmacology* **2007**, 7, 1-16.
- [9] G. M. Cooper og R. E. Hausmann, *The Cell : a Molecular Approach*, ASM Press, Washington D.C., **2004**, 5.Ed., s. 51
- [10] J. Sakai, A. Yoshimori, Y. Nose, A. Mizoroki, N. Okita, R. Takasawa og S.-i. Tanuma, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 4854-4859.
- [11] D. A. Allen, P. Pham, I. C. Choong, B. Fahr, M. T. Burdett, W. Lew, W. L. DeLano, E. M. Gordon, J. W. Lam, T. O'Brien og D. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3651-3655.
- [12] H. C. Kolb, M. G. Finn og K. B. Sharpless, *Angew. Chem Int. Ed.* **2001**, 40, 2004-2021.
- [13] K. B. Sharpless og R. Manetsch, *Expert Opinion on Drug Discovery* **2006**, 1, 525-538.
- [14] K. Sonogashira, Y. Tohda og N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 4467-4470.
- [15] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy og P. J. Feeney, *Adv. Drug Del. Rev.* **2001**, 46, 3-26.
- [16] H. Takalo, J. Kankare og E. Hanninen, *Acta Chem. Scand.* **1988**, 42B, 448-454.
- [17] R. Chinchilla og C. Nájera, *Chem.Rev.* **2007**, 107, 874-922.
- [18] S. Pedersen-Bjergaard og K. E. Rasmussen, *Gasskromatografi, Legemiddelanalyse*, Fagbokforlaget, Oslo, **2004**, 1.Ed., s. 209-210
- [19] D. Williams og I. Flemming, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, McGraw-Hill Higher Education, Glasgow, **2008**, 6.Ed., s.48-61.
- [20] A. B. Brown og H. W. Whitlock, *Synth. Commun.* **1993**, 23, 23-34.
- [21] J. Sunkel og H. Staude, *Berichte der Bunsen-Gesellschaft* **1968**, 72, 567-573.
- [22] B. Simoneau og P. Brassard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1984**, 7, 1507-1510.
- [23] M. J. Bruce og Y. Roshan-Ali, *J. Chem. Res.* **1981**, 7, 2564-2571.
- [24] T. W. G. Solomons og C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley, **2006**, 9.Ed., s. 702-705.
- [25] R. Neumaier, E. Hahn, S. Rupprecht og W. Kramp, *Reducing Chelating Agents, their technetium and rhenium complexes, process for their production as well as their use in diagnosis and treatment*, WOP 40 25 788.6 Tyskland, **1991**, s. 18.

- [26] S. Kamisuki, S. Takahashi, Y. Mizushina, S. Hanashima, K. Kuramochi, S. Kobayashi, K. Sakaguchi, T. Nakata og F. Sugawara, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5695-5700.
- [27] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar og A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.
- [28] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin og K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [29] J. Xie og C. T. Seto, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 458-473.
- [30] a) X. Ottenwaelde, J. Cano, Y. Journaux, E. Rivière, C. Brennan, M. Nierlich og R. Ruiz-García, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 850-852; b) E. Pardo, K. Bernot, M. Julve, F. Lloret, J. Cano, R. Ruiz-Garcia, F. S. Delgado, C. Ruiz-Perez, X. Ottenwaelde og Y. Journaux, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 2768-2770.
- [31] a) O. A. Efremova, Y. V. Mironov, D. Y. Naumov, S. G. Kozlova og V. E. Fedorov, *Polyhedron* **2006**, *25*, 1233-1238; b) M. J. Scott og R. H. Holm, *JACS* **1994**, *116*, 11357-11367.
- [32] ChemPep, *ChemPep Inc. Your Source for Quality Peptides & Reagents*, <http://www.glschina.com/en/pro/peppro/cou.htm>, ChemPep Inc., Wellington, Florida, **2010**, aksessert 11.05.2010.
- [33] N. U. Hofsløkken og L. Skattebøl, *Acta Chem. Scand.* **1999**, *53*, 258-262.
- [34] Som [24], men s. 797-799
- [35] Ibid. s. 800-801
- [36] Ibid. s. 804-805
- [37] P. A. Bethel, S. Gerhardt, E. V. Jones, P. W. Kenny, G. I. Karoutchi, A. D. Morley, K. Oldham, N. Rankine, M. Augustine, S. Krapp, H. Simander og S. Steinbacher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4622-4625.
- [38] M. B. Smith og J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley, New Jersey, **2007**, 6.Ed., s. 1427-1431.
- [39] Som [24], men s. 803
- [40] N. Khoukhi, M. Vaultier og R. Carrié, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 1811-1822.